

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID**  
**Facultad de Medicina**  
**1992**

**ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA INCIDENCIA,  
SIGNIFICADO, FACTORES DE RIESGO Y EVOLUCION  
DE LA INFECCION POR VIRUS DEL GRUPO  
HERPESVIRIDAE EN PACIENTES CON TRASPLANTE  
HEPATICO**

**TESIS DOCTORAL**

**Doctorando**  
**VICTOR SANCHEZ TURRION**

Reg. F. M. 11.854

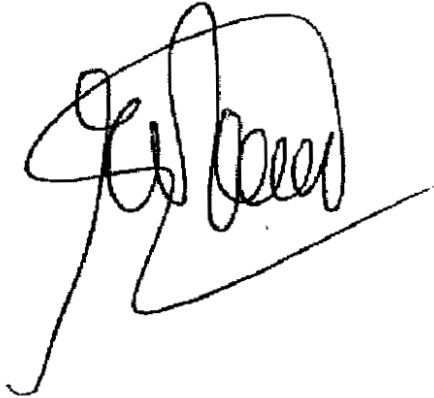
**Directores**  
**Prof. Dr. D. JOSE LUIS DEL CASTILLO-OLIVARES RAMOS**  
**Dr. D. VALENTIN CUERVAS-MONS MARTINEZ**

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la  
fecha, acordó calificar la presente Tesis Doctoral  
con la censura de Apas cum laude

por unanimidad

Madrid, 19 Mayo 1992





Juan Antonio





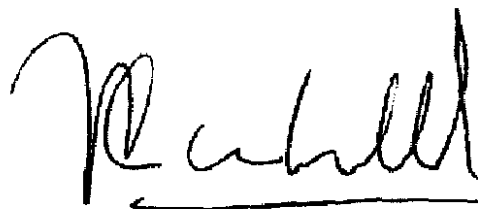
UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DE QUÍMICA

**PROF. Dr. D. JOSE LUIS DEL CASTILLO-OLIVARES RAMOS,  
CATEDRATICO DE CIRUGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID, Y JEFE DEL SERVICIO DE  
CIRUGIA EXPERIMENTAL DE LA CLINICA PUERTA DE HIERRO.**

**CERTIFICO:**

Que la presente Tesis Doctoral "ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA INCIDENCIA, SIGNIFICADO, FACTORES DE RIESGO Y EVOLUCION DE LA INFECCION POR VIRUS DEL GRUPO HERPESVIRIDAE EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPATICO", elaborada por D. Victor Sánchez Turrión ha sido realizada bajo mi dirección y reúne los requisitos necesarios para la obtención del grado de Doctor.

Y para que conste expido el presente certificado en Madrid a veintiseis de marzo de mil novecientos noventa y dos.



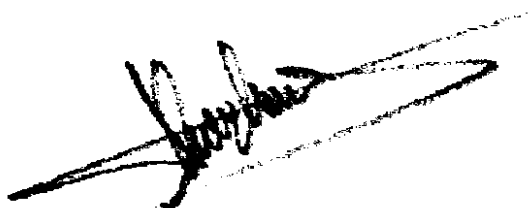
**Fdo: Prof. José Luis del Castillo-Olivares Ramos**

**Dr. D. VALENTIN CUERVAS-MONS MARTINEZ, DOCTOR EN MEDICINA, PROFESOR ASOCIADO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID, Y JEFE ADJUNTO DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA III DE LA CLINICA PUERTA DE HIERRO.**

**CERTIFICO:**

Que la presente Tesis Doctoral "ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA INCIDENCIA, SIGNIFICADO, FACTORES DE RIESGO Y EVOLUCION DE LA INFECCION POR VIRUS DEL GRUPO HERPESVIRIDAE EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPATICO", elaborada por D. Victor Sánchez Turrión ha sido realizada bajo mi dirección y reúne los requisitos necesarios para la obtención del grado de Doctor.

Y para que conste expido el presente certificado en Madrid a veintiseis de marzo de mil novecientos noventa y dos.



**Fdo: Dr. Valentín Cuervas-Mons Martínez**

*A mi mujer, Mayte  
y a mis hijos,  
Amaya y Rodrigo*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al presentar este trabajo, para optar al grado de doctor, desco expresar mi más sincero agradecimiento, a una serie de personas sin cuya ayuda intelectual y moral no hubiera sido posible llevarlo a cabo:

Al Profesor D. José Luis del Castillo-Olivares, Catedrático de Cirugía y Jefe del Servicio de Cirugía Experimental de la Clínica Puerta de Hierro, que aceptó dirigir y patrocinar esta Tesis Doctoral.

Al Dr. D. Valentín Cuervas-Mons Martínez, director y "padre" de esta Tesis, por su amistad, confianza y generosidad, así como por las innumerables horas dedicadas a la dirección y diseño de esta Tesis y su ejemplo humano y científico.

A todos mis compañeros de la Unidad de Trasplante Hepático, con quienes he compartido día a día el complejo cuidado de estos pacientes.

A los Dres: D. Aurelio Garrido, D. Armando Arce y D. Enrique Fraga por su inestimable ayuda, en la siempre ingrata tarea de recogida y clasificación de datos.

Al Departamento de Anatomía Patológica de la Clínica Puerta de Hierro, y en especial a la Dra. Dña Josefina Menéndez por su eficaz y valiosa colaboración en la realización de los estudios histológicos.

Al Servicio de Microbiología de la Clínica Puerta de Hierro, y en especial a la Dra. Dña Francisca Portero, por sus asesoramiento y ayuda en las determinaciones virológicas.

Al personal del Laboratorio de Virología de Majadahonda que realizó las determinaciones serológicas.

A todos los componentes de la Clínica Puerta de Hierro, por su ilusión y apoyo prestado al programa de Trasplante Hepático.

A Dña Isabel Millán del Servicio de Bioestadística de la Clínica Puerta de Hierro por la realización del estudio estadístico.

A Dña. María del Mar López, por su paciente y eficaz colaboración en la confección del texto y gráficos de este trabajo.

A Dña. Isabel Candela por la ayuda prestada en este trabajo.

Y en general a todos cuantos, de alguna manera han contribuido a la elaboración y finalización de este trabajo.

A todos, gracias.

## **ABREVIATURAS**

- TH:	Trasplante hepático
- CMV:	Citomegalovirus
- VHS:	Virus del herpes simple
- VVZ:	Virus Varicella-Zoster
- VEB:	Virus de Epstein-Barr
- RETH:	Registro Europeo de Trasplante Hepático
- VHB:	Virus de la Hepatitis B
- VIH:	Virus de la Inmunodeficiencia humana
- AZA:	Azatioprina
- CyA:	Ciclosporina
- Vs:	Respecto a
- OKT3:	Anticuerpos monoclonales
- DNA:	Acido desoxirribonucleico
- CD4:	Linfocitos T facilitadores
- CD8:	Linfocitos T citotóxicos y supresores
- C3:	Fracción 3 del complemento
- HLA:	Sistema mayor de histocompatibilidad
- CHM:	Complejo de histocompatibilidad principal
- HLA-DR $\beta$ :	Cadena $\beta$ componente de los antígenos HLA-DR
- SIDA:	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
- ANEB:	Antígenos nucleares del virus de Epstein-Barr
- ABO:	Sistema de grupos sanguíneos
- HIDA:	Inmidodiacético ácido
- ELISA:	Enzimo-Inmuno-Ensayo
- CPH:	Clínica Puerta de Hierro
- SFB:	Suero fetal bovino
- TGI:	Tracto gastrointestinal
- FMO:	Fallo multiorgánico
- ASAT (GOT):	Transaminasa glutámico-oxalacética
- ALAT (GPT):	Transaminasa glutámico-pirúvica
- BIL.T:	Bilirrubina Total
- NS:	Estadísticamente no significativo
- ALG:	Globulina antilinfocítica
- ATG:	Globulina antitimocítica
- SDCB:	Síndrome de desaparición de conductos biliares
- CD3:	Linfocitos T Totales
- SNC:	Sistema Nervioso Central



## **INDICE**

## INDICE GENERAL

	Pag.
<b>I.-INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>1.- ESTADO ACTUAL DEL TRASPLANTE HEPATICO (TH).....</b>	<b>1</b>
<b>2.- INFECCION POR CMV EN PACIENTES TRASPLANTADOS.....</b>	<b>5</b>
2.1.- Tipos de infección.....	5
2.2.- Transmisión del CMV por el órgano donante.....	7
2.3.- Patogénia de la infección por CMV en trasplantados.....	7
2.4.- Efectos clínicos de la infección por CMV en trasplantados.....	9
2.4.a.- Síndromes infecciosos clínicos causados por CMV.....	10
2.4.b.- Efectos indirectos y a largo plazo de la infección por CMV.....	12
2.4.b.1.- Sobreinfección por gérmenes oportunistas.....	12
2.4.b.2.- Infección por CMV y rechazo del injerto.....	12
2.4.b.3.- Disfunción no inmunológica del injerto e infección por CMV.....	14
2.5.- Tratamiento de la infección por CMV en trasplantados.....	18
2.5.a.- Profilaxis de la infección por CMV.....	18
2.5.a.1.- Selección del donante y de los productos hemáticos.....	18
2.5.a.2.- Inmunización activa.....	19
2.5.a.3.- Inmunomodulación.....	20

2.5.a.4.- Inmunización pasiva con inmunoglobulinas.....	21
2.5.a.5.- Tratamiento antiviral.....	22
2.5.b.- Tratamiento de la infección activa.....	23
2.5.c.- Profilaxis de las superinfecciones.....	24
3.- INFECCION POR HERPES SIMPLE (VHS) EN TRASPLANTADOS.....	24
4.- INFECCION POR VIRUS VARICELLA-ZOSTER (VVZ) EN TRASPLANTADOS.....	25
5.- INFECCION POR VIRUS EPSTEIN-BARR (VEB) EN TRASPLANTADOS.....	26
II.-OBJETIVOS.....	28
III.-MATERIAL Y METODOS.....	29
1.- Diseño del estudio y población estudiada.....	29
2.- Selección de los candidatos a trasplante hepático.....	29
3.- Criterios de selección del donante.....	33
4.- Compatibilidad donante-receptor.....	34
5.- Técnica quirúrgica.....	35
6.- Inmunosupresión profiláctica.....	35
7.- Protocolo de estudio del deterioro de la función del injerto.....	36
8.- Criterios de rechazo.....	36
9.- Tratamiento del episodio de rechazo.....	37
10.- Profilaxis antibiótica.....	37
11.- Profilaxis antivírica.....	38
12.- Cultivos de vigilancia.....	38
13.- Estudio virológico.....	38

<b>14.- Metodología de recogida de muestras</b>	
<b>para estudio virológico y técnicas utilizadas.....</b>	<b>39</b>
<b>14.1.- Estudios serológicos.....</b>	<b>39</b>
<b>14.1.1.- CMV.....</b>	<b>39</b>
<b>14.1.2.- VHS.....</b>	<b>40</b>
<b>14.1.3.- VVZ.....</b>	<b>40</b>
<b>14.2.- Aislamiento viral.....</b>	<b>40</b>
<b>15.- Criterios de infección.....</b>	<b>41</b>
<b>16.- Tratamiento de la infección por herpesviridae.....</b>	<b>43</b>
<b>17.- Causa de muerte.....</b>	<b>43</b>
<b>18.- Estudio estadístico.....</b>	<b>44</b>
<b>IV.-RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
<b>1.- DATOS GENERALES EN LA POBLACION ESTUDIADA.....</b>	<b>45</b>
<b>1.1.- Número de pacientes.....</b>	<b>45</b>
<b>1.2.- Edad.....</b>	<b>45</b>
<b>1.3.- Sexo.....</b>	<b>45</b>
<b>1.4.- Enfermedad de base.....</b>	<b>46</b>
<b>1.5.- Severidad de la hepatopatía.....</b>	<b>47</b>
<b>1.6.- Duración de la cirugía y trasfusión</b>	
<b>intraoperatoria.....</b>	<b>47</b>
<b>1.7.- Tiempo de seguimiento.....</b>	<b>47</b>
<b>1.8.- Supervivencia.....</b>	<b>48</b>
<b>2.- INCIDENCIA Y SIGNIFICADO DE LA INFECCION</b>	
<b>POR HERPESVIRIDAE.....</b>	<b>48</b>
<b>2.1.- Prevalencia y tiempo postrasplante de</b>	
<b>aparición de la infección por CMV.....</b>	<b>48</b>
<b>2.2.- Prevalencia y momento postrasplante de</b>	
<b>aparición de la enfermedad por CMV.....</b>	<b>48</b>

2.3.-	Prevalencia y tiempo de aparición de la infección por VHS.....	49
2.4.-	Prevalencia y tiempo de aparición de la infección por VVZ.....	54
2.5.-	Prevalencia global de la infección por herpesviridae.....	54
2.6.-	Localización de la enfermedad por CMV.....	54
2.7.-	Diagnóstico y evolución de la enfermedad por CMV.....	56
2.8.-	Localización, tratamiento y evolución de la infección por VHS.....	60
2.9.-	Localización, tratamiento y evolución de la infección por VVZ.....	64
3.-	FACTORES DE RIESGO DE DESARROLLO DE ENFERMEDAD POR VIRUS DEL GRUPO HERPESVIRIDAE.....	65
3.1.-	Factores de riesgo en la enfermedad por CMV.....	65
3.2.-	Factores de riesgo en la infección por VHS.....	66
4.-	RELACION ENTRE CMV Y RECHAZO.....	67
4.1.-	Frecuencia de rechazo.....	67
4.2.-	Tiempo de aparición del rechazo.....	67
4.3.-	Respuesta al tratamiento del primer episodio de rechazo.....	67
4.4.-	Respuesta al tratamiento del segundo episodio de rechazo.....	69
4.5.-	Tiempo aparición de la infección por CMV y del rechazo.....	69

4.6.- Incidencia de rechazo en los pacientes que presentaron infección por CMV y en los pacientes que no desarrollaron esta complicación.....	74
5.- ESTUDIO DE LAS SECUELAS CRONICAS EN EL INJERTO POR EL CMV.....	75
5.1.- Modificaciones del perfil bioquímico en la enfermedad por CMV.....	75
V.-DISCUSION.....	78
1.- INCIDENCIA Y SIGNIFICADO DE LA INFECCION POR VIRUS DEL GRUPO HERPESVIRIDAE EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPATICO.....	78
1.1.- Infección por CMV.....	78
1.2.- Infección por VHS.....	83
1.3.- Infección por el virus varicella-zoster (VVZ).....	84
2.- FACTORES DE RIESGO DE DESARROLLO DE ENFERMEDAD POR CMV.....	85
3.- RELACION TEMPORAL ENTRE INFECCION POR CMV Y RECHAZO DEL INJERTO.....	88
4.- SECUELAS CRONICAS EN EL INJERTO POR LA INFECCION POR CMV.....	88
VI.-CONCLUSIONES.....	90
VII.-BIBLIOGRAFIA.....	92-115

## **I.- INTRODUCCION**

## **1.-ESTADO ACTUAL DEL TRASPLANTE HEPATICO (TH)**

El trasplante hepático ortotópico (TH), consiste en la sustitución de un hígado enfermo por otro sano, en la misma localización anatómica. Los primeros TH experimentales los realizaron Moore y cols.<sup>1</sup> y Starzl y cols.<sup>2</sup> durante los años 1955-1960. Tres años más tarde, Starzl y cols.<sup>3</sup> realizaron el primer TH en el hombre. Los resultados fueron muy malos, ya que de los cuatro pacientes trasplantados durante ese año, el que más sobrevivió fue 23 días<sup>3</sup>. En 1967, Starzl y cols.<sup>4</sup> realizaron el primer TH con supervivencia superior a un año. Hasta 1980 el trasplante hepático era considerado un tratamiento experimental, sólo indicado en pacientes desahuciados, ya que los resultados obtenidos eran malos, lográndose una supervivencia al primer año postrasplante sólo del 30%. A partir de 1980, los resultados mejoraron espectacularmente obteniéndose una supervivencia al año del trasplante superior al 70%<sup>5</sup>.

El trasplante hepático ha revolucionado la hepatología, habiéndose incorporado a la rutina terapéutica de un número cada vez mayor de centros, en casi todos los países desarrollados. Ello ha sido posible gracias a una selección más rigurosa del receptor, a mejores técnicas quirúrgicas y anestésicas, a los mejores cuidados postoperatorios, y al desarrollo de la inmunología y de la farmacología, con la aparición de nuevos y más potentes inmunosupresores y mejores medicamentos antibacterianos, antivíricos y antimicóticos.

En la actualidad, se han realizado más de 15.000 trasplantes en los 137 programas de trasplante hepático que existen en el mundo<sup>6,7</sup>, 74 de ellos en Europa Occidental<sup>7</sup>. Hasta diciembre de 1991 se habían realizado en España más de 1.000 trasplantes entre los 12 grupos existentes<sup>8</sup>, aumentando la cifra de trasplantes de una manera exponencial. Este aumento se debe a que existe una necesidad real de dicho trasplante, ya que se considera el tratamiento de



elección en casi todos los pacientes con hepatopatías graves que no responden a otro tipo de tratamiento. El TH, es el único tratamiento curativo que ofrece una supervivencia prolongada, con buena calidad de vida, a los pacientes con enfermedades hepáticas no curables por otros medios.

La supervivencia actuarial, al año del trasplante, de los 7.116 pacientes incluidos en el Registro Europeo de Trasplante Hepático (RETH) hasta el 30 de junio de 1991, es del 65.7%, del 60.6% a los 2 años y del 57.8% a los tres años del trasplante<sup>7</sup>. La supervivencia ha aumentado durante los últimos años: 35% de supervivencia al año en los trasplantes realizados antes de 1984, 40% en los efectuados en el año 1984, 60% en el año 1986, 65% en el año 1988, 71% en el año 1989 y del 74.6% en los realizados en el año 1990. Esta mejora se debe, fundamentalmente, a la disminución de la mortalidad durante los tres primeros meses (53.6% en los trasplantes realizados en 1984, 31.6% en el año 1986, 23.6% en 1988, y 21.3 en 1989), por la mayor experiencia técnica de los grupos, y por la introducción de inmunosupresores más potentes y selectivos, y mejores y nuevos antibacterianos, antivíricos y antifúngicos.

El 80-90% de las muertes postrasplante tienen lugar durante los dos primeros meses<sup>7,9</sup>. Las causas más frecuentes de muerte son la infección, el rechazo, y la recurrencia de la enfermedad. La importancia relativa de cada una de ellas varía a lo largo del tiempo. Durante la primera semana, las causas principales son el fallo primario del injerto, los problemas técnicos y las infecciones. Durante el primer mes, la causa fundamental de muerte es la infección (50%)<sup>7,9</sup> y, a partir del sexto mes, la infección, el rechazo y la recurrencia de la enfermedad. Después del primer año el fallecimiento de los pacientes se origina por recurrencia de la enfermedad (50%), por rechazo crónico o por infección<sup>7</sup>.

Como ya se ha mencionado, la infección es globalmente la principal causa de muerte en los pacientes con trasplante hepático. Los factores que

terminan la incidencia y gravedad de la infección en estos pacientes en<sup>10</sup>:

1) La condición general del paciente y del órgano trasplantado. Es bien sabido que los enfermos portadores de hepatopatías crónicas presentan mayor riesgo de desarrollar procesos infecciosos. Por lo tanto es imprescindible que en el momento del trasplante no exista ningún foco de infección. Asimismo, el órgano trasplantado puede ser el origen de procesos infecciosos, bien por infección viral hepática (en especial VHB, HCV y VIH) o por la participación del hígado en una infección sistémica del donante (bacteriana y fúngica principalmente).

2) La calidad de la técnica quirúrgica efectuada. Las colecciones intrabdominales, tanto de sangre como de bilis, pueden ser excelentes, "caldos de cultivo" para el crecimiento de microorganismos.

3) El tratamiento inmunodepresor. Los fármacos utilizados para evitar y controlar los episodios de rechazo aumentan el riesgo de infección.

4) El estado "neto" de inmunosupresión. La inmunosupresión existente en un momento determinado no está condicionada únicamente por los fármacos utilizados, sino también por la coexistencia de infecciones víricas, trastornos metabólicos como ictericia, uremia e hiperglucemia y neutropenia.

5) El ambiente hospitalario, con su selección de gérmenes y resistencias antimicrobianas.

El periodo donde se acumulan la mayoría de las infecciones postrasplante es el primer mes. En este período de tiempo predominan las infecciones bacterianas (enterococos, gramnegativos, anaerobios) y fúngicas, siendo menor la incidencia de infecciones víricas y por gérmenes oportunistas (aspergillus, legionella, nocardia).

A partir del primer mes disminuyen los episodios infecciosos bacterianos y micóticos y aumentan los debidos a virus y gérmenes oportunistas.

Las infecciones víricas, y en especial las originadas por los virus del grupo herpesviridae, son de importancia especial ya que pueden desencadenar en el paciente inmunodeprimido diferentes cuadros clínicos que no son objetivables en el individuo normal.

El grupo herpesviridae está formado por los siguientes virus: citomegalovirus (CMV), herpes simple (VHS), herpes varicella-zoster (VVZ) y Epstein-Barr (VEB), y representa una importante causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con trasplante hepático<sup>11</sup>; siendo el CMV el que con mayor frecuencia origina enfermedad severa o muerte<sup>12,13,14,15,16,17</sup>.

La mortalidad asociada a la infección por CMV en trasplantados hepáticos es difícil de determinar con seguridad, debido a la presencia de enfermedades concomitantes. En dos estudios de la Universidad de Pittsburgh la infección por CMV originó la muerte del paciente en el 5% de la población total y en el 10% de los pacientes infectados<sup>18,19</sup>. Si la infección por CMV es un cofactor en la morbilidad de las infecciones bacterianas y micóticas en estos pacientes, como ha sido sugerido para trasplantados renales y cardíacos, es un tema de futuro estudio<sup>20,21</sup>.

## **2.- INFECCION POR CMV EN PACIENTES TRASPLANTADOS**

### **2.1.- Tipos de infección**

Existen tres patrones epidemiológicos distintos de infección por CMV: primoinfección, reactivación y superinfección, cada uno de ellos con una diferente propensión para causar enfermedad clínica en el paciente trasplantado.

a) La primoinfección ocurre cuando un individuo seronegativo, es decir, que no tiene anticuerpos contra el CMV, se infecta con un virus portado de manera latente por las células de un donante seropositivo. En el trasplante renal y cardíaco, donde el volumen de productos hemáticos trasfundidos es relativamente escaso, la fuente de infección es en el 80-90% de los casos el órgano de un donante seropositivo. En el 10-20% restante, la fuente es la sangre trasfundida de donante seropositivo.

En el trasplante hepático, en el que el volumen de hemoderivados trasfundidos es mayor, la importancia relativa del injerto y de los hemoderivados administrados en la transmisión de la infección primaria está peor establecida<sup>22</sup>. Debido a las grandes cantidades trasfundidas es probable que en el caso del hígado, las primoinfecciones se deben en muchos más casos a la transfusión.

La incidencia de la enfermedad sintomática y la severidad de los síntomas no parece diferente si la fuente de primoinfección es el injerto o los productos hemáticos<sup>12,23,24,25,26,27,28,29</sup>.

Datos recientes sugieren que no todos los donantes seropositivos de riñones (y presumiblemente de otros órganos) son igualmente capaces de transmitir la primoinfección por CMV. De hecho, cuando dos receptores seronegativos reciben un riñón de un mismo donante seropositivo, o ambos desarrollan la primoinfección por CMV o ninguno de los dos la desarrollan.

Por consiguiente, aunque todos los individuos que pueden transmitir CMV son seropositivos, solo un subgrupo de ellos son capaces de hacerlo. Actualmente no se dispone de marcadores que distingan entre estos dos grupos de donantes seropositivos<sup>30</sup>.

b) El segundo patrón epidemiológico de la infección por CMV es la **reinfección**. En esta forma de infección el receptor, que ha sido infectado por CMV previamente al trasplante, sufre una reactivación del virus endógeno latente.

Se piensa que casi todos los pacientes seropositivos para CMV antes del trasplante mostrarán alguna evidencia de reactivación viral (serológica y/o virológica) después del trasplante si son estudiados intensamente<sup>12,23,25,26,27,28</sup>.

c) La tercera forma es la **superinfección**, en la cual un receptor seropositivo recibe un injerto de un donante seropositivo y la cepa del virus que se activa es la del donante. Fryd y cols.<sup>31</sup> y Sunley y cols.<sup>32</sup> han demostrado que los receptores seropositivos que reciben riñones de donantes seropositivos tienen peores resultados que los que reciben órganos de donantes seronegativos. Estas observaciones sugieren que clínicamente ocurrió una superinfección importante. Posteriormente se ha demostrado que la superinfección es muy frecuente en trasplante renales, al menos en el 50% de los receptores seropositivos que reciben órganos de donantes seropositivos<sup>33,34</sup>, y que los pacientes con superinfección son más sintomáticos que los pacientes con reactivación de la infección. Por ello, es probable que la superinfección sea también común en otros tipos de trasplante. En el hígado es probable dado el número de transfusiones, que la superinfección sea al menos tan frecuente como en el riñón.

## **2.2.-Trasmisión del CMV por el órgano donante**

La evidencia de que el órgano donante podía transmitir el CMV se basó en la aparición de infección por CMV en receptores seronegativos que recibían órganos de donantes seropositivos<sup>25,35</sup>. El riesgo de desarrollar infección primaria bajo estas circunstancias fue del 59%<sup>36</sup>. Este hecho se confirmó al aislar la misma cepa de virus en los receptores seronegativos de un mismo donante seropositivo<sup>33</sup>. La transmisión del virus del herpes simple, de otros virus (HIV, virus de la hepatitis B y no A no B), o del toxoplasma por el órgano donante, también ha sido documentada por este método<sup>37</sup>, y la transmisión pueden también ocurrir<sup>37,38</sup>, pero ninguno de estos agentes es transmitido por el órgano, de manera tan fulminante como el CMV.

## **2.3.-Patogénia de la infección por CMV en trasplantados**

El paso crítico en la patogénia de la infección por CMV en el paciente trasplantado es la reactivación del virus latente. El sitio de latencia del virus en individuos seropositivos no es bien conocido. Es muy probable que el virus esté presente en múltiples lugares y que se reactive por diferentes estímulos<sup>39</sup>. De hecho, se ha demostrado que los granulocitos, los linfocitos y los monocitos<sup>40,41</sup>; los hepatocitos,<sup>42,43</sup> los túbulos renales, las células endoteliales de capilares peritubulares<sup>44,45</sup> y el tejido cardíaco,<sup>46</sup> albergan el virus durante la infección por CMV en huéspedes inmunocompetentes.

Cualquiera que sea el lugar de latencia, la reactivación del virus es el paso crítico en la patogenia de la infección por CMV. El factor exógeno más importante que influye en la reactivación del CMV es el tipo y la intensidad del tratamiento inmunosupresor administrado<sup>23</sup>.

Experimentalmente se ha podido estudiar el efecto de los distintos componentes de la pauta inmunosupresora sobre la reactivación de virus latente<sup>47</sup>. Los esteroides no parecen tener un efecto importante en la reactivación del CMV latente. De hecho, la infección por CMV era prácticamente desconocida en los pacientes trasplantados hasta que se introdujeron drogas citotóxicas como la azatioprina o la ciclofosfamida<sup>23,26,48</sup>. Antes de 1966, las infecciones por CMV no se habían observado cuando se utilizaba inmunosupresión de otras características y no drogas citotóxicas. Con la introducción de drogas como la AZA y el suero antilinfocítico, las infecciones por CMV se hicieron comunes. La importancia de tales agentes queda claro en un estudio del grupo de Pittsburgh realizado en pacientes con enfermedades del tejido conectivo<sup>48</sup>. Así, no se aisló CMV en ninguno de los 37 pacientes tratados sólo con corticoides, mientras que aquellos pacientes que recibieron agentes citotóxicos como la ciclofosfamida tuvieron cultivos de orina positivos para CMV. Un estudio prospectivo demostró que el 56% de los pacientes tratados con ciclofosfamida desarrolló infección por CMV y viruria.

La ciclosporina (CyA) tiene aparentemente poco efecto sobre la reactivación del virus latente, pero tiene un gran efecto bloqueante de la respuesta del huésped al virus en replicación<sup>49,50,51</sup>.

Las globulinas antilinfocíticas, policlonales o monoclonales, parece que son los agentes inmunosupresores empleados clínicamente que tienen mayor efecto sobre la reactivación del CMV latente<sup>23,26,52,53,54</sup>. En un estudio de 1245 trasplantes renales realizados en 46 centros distintos, Rubin y cols.<sup>29</sup> comunicaron que la mortalidad debida a infección por CMV en pacientes que recibieron suero antilinfocítico fue más del doble que en los que no lo recibieron (19% vs. 5%). Shing y cols.<sup>19</sup> describieron que los trasplantados hepáticos, que recibieron OKT3, tuvieron más episodios de

infección diseminada por CMV y más episodios de herpes oral y genital que aquellos que no recibieron dicha droga.

#### **2.4.- Efectos clínicos de la infección por CMV en trasplantados**

Debido a las propiedades únicas del virus y a que se necesita la inmunosupresión de por vida, las consecuencias de la infección por CMV en los pacientes trasplantados son mucho mayores que la de otros procesos infecciosos. Por ejemplo, aproximadamente el 50% de los trasplantados renales continua excretando virus por orina y/o saliva 5 años después del trasplante, y un 20% de ellos durante más tiempo<sup>55</sup>.

Las consecuencias de la infección CMV en el injerto pueden resumirse en tres categorías generales.

a.- Síndrome infeccioso clínico producido directamente por el virus, y que varía desde cuadros agudos como fiebre, neumonía, hepatitis o colitis, a cuadros crónicos como la corioretininitis.

b.- Un estado de inmunosupresión originado por el virus que desempeña un papel importante en la patogenia de las superinfecciones oportunistas por pneumocystis carinii, listeria monocytógenes o aspergillus.

c.- Una forma de disfunción del injerto que parece estar asociada a la infección por CMV y que tiene un curso clínico diferente al del rechazo del injerto.



#### 2.4.a.- Síndromes infecciosos clínicos causados por CMV

La infección suele tener un comienzo insidioso con pródomos no específicos de fiebre, malestar general, mialgias, artralgias y anorexia. La fiebre puede durar hasta 3-4 semanas, pero habitualmente es inferior a 2 semanas y puede ser la única manifestación de infección por CMV<sup>23</sup>. La infección por CMV es la responsable de más del 66% de los episodios febriles que aparecen durante ese periodo de tiempo<sup>23,54,56,57,58,59,60</sup>.

En el 20-30% de estos pacientes con infección por CMV, aparece tos seca a los pocos días del comienzo de la fiebre. Al principio no existe disnea ni taquipnea, pero progresivamente al cabo de pocos días puede desarrollarse "distress" respiratorio. En el examen físico, no existen datos importantes a la auscultación, incluso en presencia de neumonía. La apariencia radiográfica de la neumonía por CMV es muy variable. La forma más común es un patrón broncoalveolar, bilateral, simétrico, de predominio en lóbulos inferiores<sup>56</sup>. Aunque en algunos pacientes progresa a opacificación total del pulmón<sup>61</sup> este hallazgo es inusual y debe sugerir la presencia de una posible superinfección oportunista. Otra forma rara radiológica es la condensación focal, más sugestiva de infecciones bacterianas o micóticas<sup>56</sup> o, excepcionalmente, un nódulo solitario pulmonar<sup>62</sup>. La aparición de neumonía en el curso de una infección por CMV es un signo de mal pronóstico.

Con frecuencia existen alteraciones hematológicas en forma de linfocitosis atípica (5-10%) o de leucopenia y trombopenia graves<sup>23</sup>.

La alteración de la función hepática, aparece en el 30-35% de los pacientes con enfermedad sistémica por CMV<sup>63,64</sup>. Esta alteración hepática no suele originar problemas en trasplantados renales o cardíacos, pero plantea un difícil diagnóstico diferencial con el rechazo en los pacientes con trasplante hepático. El diagnóstico se establece mediante biopsia, al

demostrar los típicos cuerpos de inclusión viral<sup>19,22,65</sup>, o mediante tinción por inmunofluorescencia o con hibridación "in situ" con sondas de DNA<sup>19,22,44,45,65</sup>. En individuos inmunocompetentes se ha demostrado, además, la existencia de infiltrado mononuclear portal y sinusoidal, aumento de la actividad mitótica, necrosis hepatocelular moderada y, con frecuencia, formación de granulomas y daño en el epitelio biliar, en ausencia de infección hepática por CMV<sup>44,66</sup>.

Otra manifestación importante de la infección por CMV, es la hemorragia gastrointestinal por úlceras. El colon derecho, especialmente a nivel de ciego, es el sitio más frecuente de estas lesiones; seguido en orden de frecuencia por el estómago, esófago e intestino delgado proximal. Estas lesiones gastrointestinales por CMV pueden aparecer en ausencia de otras manifestaciones de enfermedad por CMV<sup>60,67,68,69,70,71</sup>.

La encefalitis<sup>72</sup>, la mielitis transversa<sup>73</sup> y las ulceraciones en piel asociadas con una aparente vasculitis cutánea<sup>68</sup>, son manifestaciones clínicas más raras de la infección por CMV.

La afectación tardía más frecuente es la corioretinitis, que suele aparecer a partir del 6º mes postrasplante. Aunque puede ser asintomática en el momento de ser descubierta, la mayoría de los pacientes se quejan de visión borrosa, escotomas y reducción de la agudeza visual. Los síntomas se restringen a un ojo al principio, pero la afectación bilateral es la regla<sup>23,26</sup>.

## **2.4.b.- Efectos indirectos y a largo plazo de la infección por CMV**

### **2.4.b.1.- Sobreinfección por gérmenes oportunistas**

La infección por CMV tiene un efecto importante sobre el estado de inmunosupresión del paciente trasplantado, predisponiendo a la superinfección por una variedad de agentes microbianos. Durante la infección por CMV, los pacientes se vuelven arreactivos a los test cutáneos con antígenos comunes, como parotiditis, tuberculina y *cándida*<sup>74,75,76</sup> y tienen invertido el cociente de linfocitos T facilitadores/supresores<sup>77,78</sup>. Esta supresión de la inmunidad celular durante la infección por CMV puede ser la razón de que la infección por otros agentes microbianos tales como *cándida* o *aspergillus* sea más probable en pacientes trasplantados con infección por CMV<sup>20,21,79</sup>. Particular conexión existe entre la infección por CMV y la neumonía por *p. carinii*, la cual quizás esta relacionada con un defecto de los macrófagos alveolares inducido por CMV<sup>23,26,56,60,80</sup>.

Los dos mejores marcadores clínicos para valorar el riesgo de superinfección son el grado de leucopenia y la proporción de células T circulantes<sup>23</sup>.

### **2.4.b.2.- Infección por CMV y rechazo del injerto**

Experimentalmente se ha comprobado que la infección por CMV puede causar rechazo y que el rechazo facilita la infección por CMV.

Ho y cols.<sup>81,82</sup> han demostrado que las reacciones del injerto, tanto del huésped contra el injerto como del injerto contra el huésped, pueden causar un aumento de la infección por CMV en ratones. Más recientemente se ha encontrado que la reacción injerto contra huésped puede facilitar la aparición de neumonía por CMV en ratones<sup>83</sup>. Además, el hecho de que los

receptores de riñones procedentes de cadáver, en los cuales la incidencia de rechazo es más alta que en los receptores de riñones de donante vivo, tengan una más alta incidencia de infección por CMV, hace presumir que las reacciones del injerto también aumentan la frecuencia de infección por CMV en humanos<sup>84,85</sup>.

En clínica existe una alta sospecha de que las infecciones virales, pueden incrementar el riesgo de rechazo en los trasplantados<sup>86</sup>. Así, López y cols.<sup>87</sup> observaron la aparición de episodios de rechazo en 21 de 29 pacientes trasplantados renales con infección por CMV y solamente en 1 de 6 pacientes no infectados. Estos resultados han sido corroborados posteriormente por otros autores<sup>28</sup>.

Existe evidencia de que la infección por CMV interfiere con la utilidad de la politransfusión antes del trasplante, para aumentar la supervivencia del injerto en pacientes con trasplante renal<sup>88</sup>. Andrus y cols.<sup>89</sup> estudiaron este aspecto en trasplantados renales y observaron que los pacientes que recibieron más de cinco transfusiones antes del trasplante y que no desarrollaron infección tuvieron una supervivencia del injerto a los dos años del trasplante del 91%, mientras que en aquellos pacientes que desarrollaron infección por CMV, la supervivencia del injerto fue sólo del 43%. Este hecho sugiere que el efecto beneficioso de la transfusión fué, al menos parcialmente, contrareestado por la infección por CMV.

Flechner y cols.<sup>90</sup> en un estudio de 100 trasplantados renales observaron que la supervivencia del injerto en los pacientes que recibieron más de 5 unidades de sangre fue del 70%, mientras que la supervivencia fue sólo del 35% en los pacientes no trasfundidos. Las transfusiones ayudan por tanto a la supervivencia del injerto tanto en los infectados como en los no infectados, aunque la supervivencia del injerto al año en el grupo no infectado (78%) fue significativamente más alta que en el grupo infectado (58%). Resultan llamativos los resultados de Grattan y cols.<sup>79</sup>, en un análisis

actuarial de pérdida del injerto por arterioesclerosis que conduce bien a retrasplante o muerte, observando que el nivel de pérdida del injerto a los 5 años fue del 68,8% en el grupo de infectados por CMV y de 36,8% en el de no infectados ( $p < 0.005$ ); también demostraron en trasplantados cardíacos que el rechazo era más frecuente en el grupo de infectados. La supervivencia actuarial del paciente fue también significativamente más baja en el grupo infectado. La arterioesclerosis del injerto, valorada por criterios angiográficos y estudios de autopsia, fue mucho más común después del trasplante en los pacientes con infección por CMV. Estos datos sugieren la hipótesis de que el CMV juega un papel en la patogénesis de la arterioesclerosis postrasplante cardíaco. Este estudio no encontró relación entre la severidad de la infección por CMV y la severidad del rechazo y la arterioesclerosis.

Sin embargo, otros autores han sido incapaces de demostrar de manera concluyente que la infección por CMV cause rechazo<sup>91</sup>. Flechner y cols.<sup>90</sup> encontraron que la infección por CMV, con o sin síntomas, no tenía efecto sobre la supervivencia del injerto en pacientes con trasplante renal.

#### **2.4.b.3.- Disfunción no inmunológica del injerto e infección por CMV**

El aspecto más cuestionado de la infección por CMV es si puede originar disfunción crónica en el injerto. Desde que Simons y cols. sugirieron en 1970 esta posibilidad,<sup>86</sup> numerosos estudios han demostrado correlaciones positivas y negativas entre la disfunción crónica del injerto e infección por CMV<sup>23</sup>. En un estudio, realizado en la Universidad de Minnesota, se observó que los pacientes con infección por CMV tenían una peor función del injerto que los pacientes no infectados por CMV<sup>65</sup>.

1.- Los casos ocasionales de disfunción renal se han descrito en pacientes en los que ha ocurrido enfermedad túbulointersticial y existe evidencia de invasión viral del parénquima renal<sup>42,92</sup>; sin embargo tales casos son poco frecuentes. Si la infección por CMV causa mucha disfunción del injerto, esta no se debe a invasión viral directa.

2.- Richardson y cols.<sup>93</sup> han descrito una lesión glomerular en pacientes con trasplante renal (pero no en otros inmunodeprimidos incluyendo otro tipo de trasplante)<sup>94,95,96</sup> que parece asociarse a la infección por CMV, particularmente con viremia por CMV. Esta glomerulopatía se asocia a cambios en el subgrupo de células T circulantes (disminución de CD4 y aumento de CD8, e inversión del cociente facilitadores/supresores) causada por la infección sistémica viral como la producida por CMV. La glomerulopatía se caracteriza por hipertrofia de células endoteliales, necrosis, pérdida por estrechamiento u obliteración de la luz de capilares, formación de material fibroso entre las células, y leve hiper celularidad segmental. La tinción por inmunofluorescencia revela depósitos de inmunoglobulina y de la fracción C3 del sistema del complemento dentro de estos glomérulos.

El número de células T en los glomérulos de pacientes con glomerulopatía está aumentado diez veces, siendo todas las células T CD8+. El número de fagocitos mononucleares activados presentes está también aumentado, y los glomérulos de estos pacientes con glomerulopatía teñidos más intensamente por antígenos HLA clase I que los túbulos, en contraste con los casos típicos de rechazo. Clínicamente los pacientes con esta glomerulopatía responden poco al tratamiento antirechazo<sup>95,97</sup>.

3.- Otros observadores han confirmado la existencia de esta lesión glomerular, pero no han sido capaces de confirmar su asociación con la infección por CMV<sup>94,98</sup>. Rubin y cols. sugieren la posibilidad de la siguiente serie de sucesos<sup>23</sup>: El rechazo está asociado a la sobre regulación de

antígenos (CHM) sobre las células del injerto renal. Varios estudios han sugerido que esta sobreexpresión es debida a una liberación "in situ" de interferón por una variedad de células, especialmente células T activadas<sup>99,100,101</sup>. La infección por CMV está asociada con la producción y liberación de  $\alpha$ -interferón y  $\beta$ -interferón<sup>23</sup>. Se ha demostrado "in vitro", que la sobreexpresión de la expresión de los antígenos HLA clase-I y la respuesta de las células T citotóxicas a los aloantígenos, aumenta durante la infección por CMV<sup>102,103</sup>. En trasplantados renales la infección por CMV se asocia invariablemente a una sobreexpresión en la manifestación de los antígenos de clase II (CHM) en el injerto, así, en 12 de 14 casos el aumento se asoció a rechazo<sup>104</sup>. Rubin y cols.<sup>23</sup> sugieren que esta glomerulopatía representa una forma inusual de lesión del injerto que es debida al interferón (u otra citokina) que induce una sobreexpresión de antígenos (CHM) sobre las células glomerulares (y a menudo sobre las células del endotelio arterial) con una citolisis alorreactiva por linfocitos CD8+ como efectores mayores de la lesión.

Aunque la liberación local de citokina podría estar causada por una amplia variedad de estímulos, en el trasplante renal, la infección por CMV es uno de los factores más importantes de iniciación, sino el más importante en la patogénesis de esta lesión<sup>23</sup>.

La vinculación de la infección por CMV y la lesión del injerto, proviene también de la experiencia de la Universidad de Stanford con trasplante cardíaco. Grattan y cols.<sup>79</sup> han descrito que los pacientes con infección por CMV, tienen mayor incidencia de rechazo precoz y aumento de la incidencia de arterioesclerosis del injerto, la cual, según muchos investigadores, es una manifestación del rechazo crónico. De nuevo los mecanismos de este efecto, que son desconocidos, quizás incluyen la citokina-mediadora de la sobreexpresión del antígeno (CHM), seguida por la agresión inmune al huésped como se ha postulado antes para el riñón. La

secuencia previamente descrita homológica e inmunológica, reacción cruzada, entre una porción del antígeno inmediato precoz del CMV y la cadena HLA-DR $\beta$ <sup>105</sup>, la producción por células infectadas por CMV de una proteína homóloga a los antígenos Clase I (CHM) y por ello quizás el accionamiento del ataque inmune sobre las células portadoras de este antígeno<sup>106</sup> directo virus-mediador de la lesión del endotelio vascular con depósito secundario de lípidos<sup>79</sup> o algunos otros procesos ocasionados por el virus.

En el trasplante hepático la existencia de disfunción no inmunológica del injerto causada indirectamente por el CMV es muy difícil de demostrar, pues, los efectos directos de la infección viral pueden simular rechazo del injerto. Además los efectos potenciales de la hepatitis por virus C en esta circunstancia no están bien estudiados. Paya y cols.<sup>22</sup> han descrito un cuadro distinto del típico de rechazo en pacientes con trasplante hepático y con hallazgos histopatológicos de necrosis focal y acúmulos de neutrófilos en los lobulillos hepáticos. Este cuadro histopatológico ocurre en el curso de viremia por CMV pero en individuos con cultivos de hígado negativos para CMV, y sin evidencia histológica de infección por CMV en el injerto. Paya y cols. sugieren que estos hallazgos podrían ser el equivalente en trasplantados hepáticos, de la glomerulopatía asociada a CMV en trasplantados renales<sup>93</sup>.



## **2.5.- Tratamiento de la infección por CMV en trasplantados.**

El tratamiento de la infección por CMV puede dividirse en tres categorías generales:

- a.- Profilaxis de la infección
- b.- Tratamiento de la infección activa
- c.- Prevención de las superinfecciones oportunistas

### **2.5.a.- Profilaxis de la infección por CMV**

La profilaxis de la infección por CMV se puede realizar mediante selección del donante y de los productos hemáticos, por inmunización activa o pasiva, por inmunomodulación o por el uso de antivirales.

#### **2.5.a.1.- Selección del donante y de los productos hemáticos**

Como las primoinfecciones originan mayor morbilidad que las reactivaciones y el órgano donante es una fuente de virus, el emparejamiento virológico entre donante y receptor es una manera eficaz de disminuir la incidencia de enfermedad por CMV en trasplantados. Lo mismo que se determinan en el donante los anticuerpos HIV y el antígeno de superficie de la hepatitis B, podría ser viable determinar su estatus serológico frente a CMV, dada la posibilidad de una determinación rápida y relativamente segura, mediante la prueba del látex (aglutinación)<sup>107</sup>. Tal programa de emparejamiento se ha podido realizar en enfermos renales<sup>108</sup>, pero por dificultades logísticas es más difícil de realizar en el trasplante cardíaco y hepático. La obligación de trasplantar el mayor número de órganos puede hacer impopular esta medida en algunos programas de

trasplante. Además, la superinfección por CMV con cepas de virus del donante puede ocurrir en receptores seropositivos y algunos centros han evidenciado una tasa mayor de morbilidad por CMV en receptores seropositivos que recibieron órganos de donantes seropositivos<sup>31,32,109</sup>.

Hay muchos datos que demuestran que el CMV puede ser transmitido por los productos hemáticos trasfundidos, aunque el riesgo estimado por unidad de sangre varía ampliamente y el riesgo de infección por CMV por transfusión de sangre parece estar disminuyendo<sup>12,110</sup>. La provisión de productos hemáticos seronegativos para un trasplante hepático es un problema serio para un gran centro de trasplantes, debido al número tan importante de unidades que han de ser testadas. Dado que el nivel de infección por CMV en receptores seronegativos adultos en la Universidad de Pittsburgh es bajo cuando recibieron órganos de donantes seronegativos, creen que no estaría justificado en este caso la provisión de productos hemáticos seronegativos.

#### 2.5.a.2.- Inmunización activa

Teóricamente una forma simple de prevenir la infección por CMV sería vacunar al paciente seronegativo. En este sentido se ha desarrollado una vacuna de la cepa Town de virus y se ha probado extensamente, demostrándose que produce seroconversión en sujetos sanos y en la mayoría de los candidatos a trasplante renal, con pocos efectos adversos<sup>111</sup>. Sin embargo los estudios con esta vacuna en trasplantados no han demostrado un beneficio definitivo. En un estudio controlado, el 24% de los candidatos seronegativos receptores de trasplante cardíaco no desarrollaron anticuerpos después de la vacunación<sup>112</sup>. La frecuencia de infección, o de enfermedad por CMV no disminuyeron en receptores seronegativos

vacunados que recibieron órganos de donantes seropositivos, aunque la morbilidad por CMV fue más baja que la del grupo control no vacunado.

Otro estudio realizado en 236 trasplantados en la Universidad de Minnesota demostró un 24% de fallos de seroconversión, en 63 pacientes seronegativos vacunados<sup>113</sup>.

### **2.5.a.3.- Inmunomodulación**

Como la infección por CMV ocurre primariamente en condiciones clínicas asociadas a depresión de la inmunidad celular, los intentos por reforzar la inmunidad celular antiviral parecen un abordaje racional para la profilaxis. El único inmunomodulador estudiado con detalle ha sido el  $\alpha$ -interferon. En un estudio realizado en trasplantados renales y cardíacos que recibieron ( $3 \times 10^6$  unidades) de interferon dos o tres veces por semana durante 14 semanas postrasplante, los pacientes experimentaron una frecuencia más baja de síndromes por CMV que los del grupo placebo a pesar de niveles de infección similares<sup>114</sup>.

Por contraste el interferón no produjo ningún beneficio en la prevención de la enfermedad por CMV después de trasplante de médula ósea<sup>115</sup>. El entusiasmo por el uso del interferón parece estar en decadencia, probablemente debido a la descripción de episodios de rechazo corticorresistente en estos pacientes<sup>116</sup>. Debido al riesgo de rechazo, siempre presente, se han de balancear bien riesgos y beneficios, antes de la administración de inmunomoduladores en pacientes trasplantados.

#### 2.5.a.4.- Inmunización pasiva con inmunoglobulinas

El interés por el uso de inmunoglobulina humana que proteja contra la infección por CMV después de un trasplante, ha ido paralelo al desarrollo de preparaciones que puedan administrarse de manera segura en grandes cantidades. Durante los últimos diez años se han realizado un gran número de estudios controlados para demostrar si el plasma o las inmunoglobulinas con títulos altos de anticuerpos contra el CMV pueden proteger a los pacientes trasplantados contra la infección por CMV<sup>117,118,119,120,121,122</sup>. En el más amplio de estos estudios, 38 pacientes con trasplante de médula ósea recibieron 1g de inmunoglobulina hiperinmune anti-CMV antes del trasplante y posteriormente a intervalos semanales durante los primeros 4 meses postrasplante<sup>121</sup>. Como grupo control se utilizaron 37 pacientes tratados con placebo. El nivel de infección fue similar en ambos grupos, pero la tasa de infección sintomática fue significativamente inferior en el grupo tratado (21% vs 46%), así como la neumonía intersticial (18% vs 46%). La tolerancia a la gammaglobulina fue buena.

Un estudio reciente realizado sobre 59 trasplantados renales seronegativos que recibieron órganos seropositivos,<sup>122</sup> demostró una reducción de enfermedad por CMV (21% vs 60%) y de la incidencia de infecciones oportunistas por hongos o parásitos (0% vs 20%) en pacientes tratados con inmunoglobulinas. No hubo diferencias en la frecuencia y tiempo de aparición de la infección por CMV ni en el aislamiento del virus. Lo anterior sugiere que la profilaxis con inmunoglobulina hiperinmune anti-CMV, puede atenuar la gravedad de la enfermedad por CMV después del trasplante.

La inmunoterapia intravenosa parece tener una baja toxicidad<sup>120,121,122</sup>, es bastante cara, y la protección mostrada contra la enfermedad por CMV es solamente parcial. Por otra parte existe poca

uniformidad entre los estudios en cuanto a dosis, intervalo de tratamiento, o preparación empleada. La aplicabilidad de los estudios en trasplantados renales y de médula ósea al hígado, no está clara, y precisa ser demostrada.

#### **2.5.a.5.- Tratamiento antiviral**

Recientemente se ha demostrado que el aciclovir profiláctico puede ser eficaz profilácticamente a pesar de su poca utilidad como tratamiento. La primera indicación surgió de un estudio en trasplantados de médula ósea que recibieron altas dosis de aciclovir durante el primer mes postrasplante para protegerles de infecciones cutáneas e invasivas por herpes simple<sup>123</sup>. Este grupo tuvo significativamente menos enfermedad invasiva por CMV que el grupo control. En otro estudio prospectivo y randomizado realizado en trasplantados renales, la administración de 3.200 mg/dl durante 3 meses postrasplante de aciclovir, se siguió de una significativa reducción de enfermedad por CMV<sup>124</sup>. Si estos resultados se confirman en otro tipo de trasplantes, el aciclovir oral profiláctico podría utilizarse de manera habitual en los trasplantados.

El ganciclovir es más tóxico que el aciclovir, los efectos secundarios más graves son neutropenia y trombocitopenia, y se conoce muy poco acerca de los efectos a largo plazo<sup>125,126</sup>. Si los efectos secundarios a largo plazo impedirán su utilización como agente profiláctico, no puede ser determinado por el momento. La administración del ganciclovir por vía intravenosa podría hacer su uso profiláctico embarazoso en aquellos pacientes que pudieran dejar el hospital a las pocas semanas del trasplante.

### 2.5.b.- Tratamiento de la infección activa

En la actualidad la mayor esperanza en el tratamiento antiviral está puesta en el ganciclovir, que tiene una excelente actividad contra el CMV tanto "in vivo" como "in vitro"<sup>125,127,128</sup>.

El foscarnet es otro agente antiviral que ha sido eficaz en el tratamiento de la retinitis por CMV de pacientes con SIDA<sup>129</sup>. En algunos pacientes se ha observado nefrotoxicidad por lo que se necesitan más estudios antes de recomendar esta droga para ensayos en pacientes trasplantados, en tratamiento con CyA.

El ganciclovir<sup>125,130,131</sup> y el foscarnet<sup>132</sup> probablemente son eficaces solos, particularmente en las situaciones crónicas por CMV tales como la coriorretinitis. El aciclovir, aparentemente efectivo en profilaxis, no parece tener un papel en el tratamiento.

En un estudio realizado con trasplantados de médula ósea con neumonía por CMV, el ganciclovir tuvo actividad antiviral, pero 9 de 10 pacientes murieron<sup>125</sup>. Trabajos posteriores realizados en pacientes con trasplante de órganos sólidos han sido más esperanzadores<sup>126,131,133,134</sup>. En un estudio realizado en trasplantados de corazón o corazón-pulmón con infección por CMV grave, seis de ocho pacientes mejoraron con el tratamiento y todos respondieron con aclaramiento del virus<sup>133</sup>.

Otro estudio demostró mejoría en 9 de 10 trasplantados renales o hepáticos con invasión de tejidos por CMV tratados con ganciclovir<sup>134</sup>.

Si bien los datos sobre como afecta esto al trasplantado son insuficientes, los estudios de infección por CMV en el modelo murino<sup>135</sup> y de trasplantados de médula<sup>136,137,138</sup> han mostrado que el mejor tratamiento es la combinación de ganciclovir y gammaglobulina hiperinmune.

### **2.5.c.- Profilaxis de las superinfecciones**

El último asunto a considerar en el manejo de la infección por CMV es la prevención de superinfecciones oportunistas. No hay estudios controlados de referencia. Rubin propone disminuir la inmunosupresión exógena (naturalmente cualquier terapia con anticuerpos antilinfocitarios), iniciar profilaxis antipneumocistis con trimetoprim-sulfametoxazol, debido a la estrecha asociación entre la infección por CMV y la neumonía por pneumocistis carinii, y finalmente siempre que sea posible, colocar al paciente en habitación con aire filtrado para prevenir infecciones oportunistas pulmonares debido a organismos como el aspergillus.<sup>23</sup>

### **3.- INFECCION POR HERPES SIMPLE (VHS) EN TRASPLANTADOS**

La infección por virus del herpes simple (VHS) es bastante frecuente en pacientes trasplantados. Aunque existe la posibilidad de que la infección sea transmitida por el injerto<sup>139</sup>, la mayoría de estas infecciones son secundarias a la reactivación del virus inducida por la inmunosupresión. Los efectos clínicos de la infección por VHS en el paciente trasplantado son diversas<sup>23</sup>. La manifestación más frecuente es el herpes labial, debido a VHS tipo I. Habitualmente comienza al final del primer mes postrasplante y origina ulceraciones costrosas, grandes y dolorosas, que pueden dificultar la nutrición normal y el manejo de las secreciones orales, y por consiguiente aumentar el riesgo de neumonía por aspiración. Las lesiones esofágicas y orales por VHS pueden aparecer en pacientes afectados más severamente, especialmente si tienen colocada sonda nasogástrica.

Aunque la infección por VHS en el tracto respiratorio inferior es bastante rara en pacientes trasplantados, la intubación prolongada de

pacientes con infección oral por VHS puede causar traqueobronquitis y/o bronconeumonía herpética secundaria.

Menos frecuentemente puede ocurrir una infección anogenital causada preferentemente por VHS tipo II. Estas lesiones suelen ser bastante graves, con grandes áreas de ulceración que no tienen la típica apariencia vesicular de la infección por VHS; pueden ser negativas a la preparación de Tzanck, pero aparece en cultivos de cepillado de las lesiones. En raras ocasiones, pueden aparecer lesiones zosteriformes en glúteos o incluso en forma de chancro genital.

Las lesiones diseminadas son poco frecuentes. Todas las lesiones descritas responden bien al tratamiento con aciclovir.

#### **4.- INFECCION POR VIRUS VARICELLA-ZOSTER (VVZ) EN TRASPLANTADOS**

La primoinfección por VVZ, produce una infección diseminada, caracterizada por neumonía hemorrágica y lesiones cutáneas, encefalitis, coagulación intravascular diseminada, y hepatitis. Debido a la alta mortalidad asociada a la primoinfección por VVZ, Rubin y cols.<sup>2 3</sup> recomiendan que en todos los candidatos a trasplante se determine el título de anticuerpos contra el VVZ previo al trasplante. Los candidatos seronegativos, que son predominantemente niños, deben ser cuidadosamente instruidos acerca de la potencial gravedad de la exposición al VVZ y si ésta sucediera, debe administrarse profilácticamente inmunoglobulina anti-VVZ.

En los pacientes con infección primaria por VVZ, el tratamiento con aciclovir puede salvarles la vida si se comienza lo suficientemente pronto.

Entre el 5%-10% de los pacientes adultos desarrollan infección clínica por zoster, la cual raramente es diseminada y representa reactivación de la



infección. Esta forma de VVZ no requiere necesariamente cambios del régimen inmunosupresor, ni terapia específica antiviral, aunque el aciclovir aceleraría la curación de la lesión<sup>140</sup>.

## **5.- INFECCION POR VIRUS EPSTEIN-BARR (VEV) EN TRASPLANTADOS**

El virus Epstein-Barr (VEB) se aísla con frecuencia en pacientes trasplantados con reactivación de la infección, siendo esta reactivación mucho más común que la primoinfección<sup>141</sup>. Debido a la ubicuidad de la infección por CMV en estos pacientes y al hecho de que el CMV y el VEB probablemente tienen efectos clínicos similares en el paciente trasplantado, es muy difícil precisar la contribución exacta del VEB en la morbilidad y mortalidad de la enfermedad infecciosa del paciente trasplantado.

Más clara parece la contribución de VEB en el desarrollo de la enfermedad linfoproliferativa<sup>23</sup>.

Aproximadamente el 10%-15% de los procesos malignos observados en trasplantados son una forma de linfoma llamado "Sarcoma inmunoblástico" o "Sarcoma reticulocelular". En estos individuos, existe frecuentemente afectación del sistema nervioso central, nasofaringe, hígado, intestino delgado, y corazón puede ser observada comunmente. Los títulos de anticuerpos contra el VEB, la inmunofluorescencia de tumores por la presencia de antígenos nucleares del VEB (ANEB), y los estudios de hibridación del DNA, todos ellos implican ampliamente al VEB en la patogénesis de este tumor.

Estos tumores pueden ser clasificados histológicamente como linfomas polimórficos de células B. Actualmente se cree que estas proliferaciones de células B evolucionan desde hiperplasias policlonales

benignas VEB-dependientes, a linfomas monoclonales malignos VEB-independientes.

La inmunosupresión, particularmente la CyA, inhibe la defensa normal del huésped contra la oncogénesis VEB-inducida (linfocitos T-citotóxicos circulantes específicos contra los antígenos VEB-inducidos en la superficie de los linfocitos infectados). En los estadios precoces del tumor, cuando todavía tiene un carácter policlonal, es posible la regresión tumoral si se suspende la CyA y/o se administra el aciclovir (una droga antiviral con actividad contra el VEB)<sup>23,141,142,143,144</sup>. Los datos presentes sugieren que la enfermedad linfoproliferativa asociada al VEB es más común en pacientes con primoinfección, que en aquellos con reactivación de la infección<sup>141</sup>.

## **II.- OBJETIVOS**

Los objetivos de este trabajo de Tesis Doctoral fueron cuatro:

- 1.- En primer lugar, quisimos evaluar prospectivamente la incidencia y significado de la infección por virus del grupo herpesviridae (CMV, herpes simple y herpes zoster) en pacientes sometidos a trasplante hepático.
- 2.- En segundo lugar, nos propusimos investigar los factores de riesgo de desarrollo de la enfermedad por CMV, tales como el emparejamiento serológico para CMV entre el donante y receptor, la severidad del rechazo y el tipo e intensidad del tratamiento inmunosupresor utilizado.
- 3.- En tercer lugar, estudiamos la relación temporal que existía entre la infección por CMV y el desarrollo de rechazo del injerto.
- 4.- Por último, quisimos estudiar la presunta existencia de secuelas crónicas en el injerto, por la infección por CMV

### **III.- MATERIAL Y METODOS**

## **1.- Diseño del estudio y población estudiada**

Se realizó un estudio abierto y prospectivo incluyéndose todos los pacientes consecutivos, que recibieron un trasplante hepático en la Clínica Puerta de Hierro de Madrid, desde el comienzo de su actividad trasplantadora el 1 de Marzo de 1986 hasta el 31 de Marzo de 1991. El periodo de recogida de datos se cerró el 30 de Septiembre de 1991.

## **2.- Selección de los candidatos a trasplante hepático**

A todo paciente que consultó para valorar la posibilidad de trasplante hepático se le aplicó un protocolo de estudio, para confirmar el diagnóstico de referencia y la severidad de la afección, para excluir otras posibilidades terapéuticas, descartar la existencia de contraindicaciones al trasplante y para comprobar que éste era técnicamente posible. Los criterios que debían cumplir los pacientes con enfermedad hepática crónica para ser considerados candidatos a trasplante hepático se resumen en la tabla I. Como pauta general, se exigió la existencia de al menos dos de los criterios allí señalados. En los pacientes con enfermedad tumoral primitiva hepática, se exigió que la tumoración no fuera resecable y, que no existiera diseminación tumoral extrahepática.

Las contraindicaciones al trasplante actualmente vigentes en nuestro grupo están resumidas en la tabla II. Las contraindicaciones absolutas y permanentes son: a) la existencia de enfermedad cardiopulmonar o renal avanzada, que impida la realización de la cirugía, a excepción del síndrome

**Tabla I. Requisitos (dos ó más) que deben cumplir los pacientes con enfermedad hepática crónica (EHC) para ser candidatos a trasplante hepático.**

- |  |
|--|
| <p><b>a) EHC predominantemente parenquimatosa</b><br/>         albúmina sérica inferior a 2,5 g/dl<br/>         prolongación del tiempo de protrombina más de 5 segundos sobre el control.<br/>         encefalopatía hepática recidivante</p> <p><b>b) EHC predominantemente colestática</b><br/>         bilirrubina sérica mantenidamente superior a 10 mg/dl<br/>         prurito intratable<br/>         osteodistrofia<br/>         colangitis recurrente</p> <p><b>c) Factores comunes a ambas situaciones</b><br/>         Hemorragia digestiva por hipertensión portal<br/>         Ascitis intratable<br/>         Peritonitis bacteriana espontánea<br/>         Síndrome hepatorenal<br/>         Sepsis recurrente de origen biliar<br/>         Carcinoma hepatocelular implantado</p> |
|--|

hepatorrenal en pacientes cirróticos, ya que el síndrome hepatorrenal puede revertir con el trasplante hepático; b) la hipoxemia severa ( $pO_2 < 60$  mmHg) con anastomosis intrapulmonar derecha-izquierda, ya que estas anastomosis no revierten con el trasplante y conllevan un elevado riesgo postoperatorio; c) la diseminación tumoral extrahepática; d) la detección de anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana; y e) la enfermedad vascular severa a nivel cerebral o coronario.

**Tabla II. Contraindicaciones para trasplante hepático.**

**1. Absolutas**

**A. Permanentes**

Enfermedad cardiopulmonar o renal avanzada  
 Hipoxemia severa ( $pO_2 < 60$  mmHg)  
 Diseminación tumoral extrahepática  
 Anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana  
 Enfermedad vascular severa a nivel cerebral o coronario

**B. Transitorias**

Infección activa no controlada  
 Toxicomanía activa (drogadicción, alcoholismo)  
 Incapacidad psicológica

**2. Relativas**

Edad superior a 60 años  
 Virus B con patrón de replicación  
 Cirugía abdominal múltiple  
 Cirugía derivativa de la hipertensión portal  
 Trombosis portal

Las contraindicaciones absolutas transitorias, consisten en: a) la infección activa, fuera del sistema hepatobiliar, ya que el control de la infección es muy difícil, o imposible, con la inmunosupresión; b) la toxicomanía activa (adicción a drogas por vía parenteral o alcoholismo) y c) la incapacidad psicológica del paciente para entender y aceptar el significado del trasplante. Una vez que estos problemas están resueltos, dichos pacientes pueden volver a ser considerados como candidatos. Para los pacientes alcohólicos se exige un periodo mínimo de 6 meses de abstinencia.

Como contraindicaciones relativas se incluyen: a) la edad superior a 60 años; b) la existencia de infección por virus B de la hepatitis con patrón de replicación, c) la cirugía abdominal múltiple, ya que la cirugía del trasplante es mucho más complicada y la morbilidad postoperatoria es



mayor d) la cirugía derivativa de la hipertensión portal, porque aumenta la dificultad técnica, las pérdidas intraoperatorias de sangre y el riesgo quirúrgico del trasplante, debido al desarrollo de adherencias y e) la trombosis masiva de las venas porta, mesentérica o esplénica también son complicaciones relativas, ya que con las nuevas técnicas de reconstrucción vascular mediante la utilización de injertos venosos, se puede realizar con éxito el trasplante hepático en estos pacientes, aunque el riesgo quirúrgico es un 20% mayor que en los pacientes sin trombosis.

La decisión de trasplantar a un candidato la toma un comité, compuesto por cirujanos, hepatólogos y anestesiistas del grupo de trasplante, después de una minuciosa valoración médica. El protocolo de estudio incluye anamnesis y exploración física completa, estudio de la función y vascularización hepática (bilirrubina total y fraccionada, transaminasa glutámico pirúvica y oxalacética, gammaglutamil-transpeptidasa, fosfatasa alcalina, albúmina, proteínas totales, sales biliares, fibrinógeno, actividad de protrombina, factor VII, ecografía, tomografía computarizada, arteriografía de tronco celiaco, y biopsia hepática), valoración de la función renal (aclaramiento de creatinina, sedimento urinario, ionograma en sangre y orina), pulmonar (radiografía de tórax, espirometría y gasometría arterial), y cardíaca (electrocardiograma basal, y en pacientes con más de 60 años, con antecedentes de etilismo o con hemocromatosis, se realiza electrocardiograma de esfuerzo, ventriculografía isotópica y ecocardiograma, y en casos dudosos coronariografía), estudio virológico (virus de la inmunodeficiencia humana, virus B, Citomegalovirus, virus del herpes simple, virus del herpes zoster y Epstein-Barr), exclusión de infecciones ocultas (coprocultivo, urinocultivo, estudio parasitológico de heces, prueba de la tuberculina), grupo sanguíneo, subpoblaciones linfocitarias, panendoscopia oral y electroencefalograma. En los pacientes

con tumor hepático primitivo se realiza además tomografía computarizada de cráneo, tórax y abdomen, gammagrafía ósea con pirofosfatos, y si todo resulta negativo se indica laparotomía exploradora para descartar la posibilidad de hepatectomía parcial, o la existencia de extensión tumoral extrahepática, especialmente a nivel del hilio hepático.

### **3.- Criterios de selección del donante**

Los criterios generales de selección del donante para todo tipo de trasplante y los criterios específicos para el trasplante hepático seguidos por nuestro grupo están resumidos en la tabla III. El donante debe ser joven, con edad menor de 50 años, con criterios de muerte cerebral, hemodinámicamente estable y con respiración asistida. No puede existir ningún tipo de infección. El antígeno de superficie del virus B debe ser negativo, y no pueden existir anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana. No debe existir enfermedad neoplásica (excepto de piel o de cerebro), enfermedad sistémica (hipertensión arterial, diabetes, insuficiencia renal, etc.), ni antecedentes de adicción a drogas parenterales o alcoholismo. La dosis de fármacos vasoactivos (dopamina) administrada al donante debe ser inferior a 10  $\mu\text{g/kg/min}$ .

Como criterios específicos para el trasplante hepático se exige la ausencia de traumatismo hepático, la compatibilidad entre donante y receptor de grupo ABO y de tamaño del hígado y una función hepática normal.

**Tabla III.- Criterios de selección del donante.**

**1. Criterios generales**

- a) Edad menor de 50 años**
- b) Ausencia de**
  - infección
  - antígeno de superficie del virus B
  - anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana
  - enfermedad neoplásica (excepto piel y cerebro)
  - enfermedad sistémica (hipertensión arterial, diabetes, insuficiencia renal)
  - toxicomanía (drogadicción, alcoholismo)
- c) Dosis de fármacos vasoactivos (dopamina) inferior a 10 µg/kg/min**

**2. Criterios específicos**

- a) Ausencia de traumatismo hepático**
- b) Compatibilidad de grupo ABO**
- c) Compatibilidad de tamaño de hígado**
- d) Función hepática normal**

**4.- Compatibilidad donante-receptor**

La compatibilidad donante-receptor se basó en el grupo sanguíneo ABO y en el peso y la talla. En 6 casos de urgencia se realizó el trasplante en situaciones de incompatibilidad de grupo ABO.

## 5.- Técnica quirúrgica

La intervención quirúrgica, tanto en el donante como en el receptor, se realizó según técnica descrita por Starzl y cols.<sup>145,146</sup>, realizándose una anastomosis primaria colédoco-colédoco o coledocoyeyunostomía según el estado de la vía biliar o la enfermedad de base que indicó el trasplante.

## 6.- Inmunosupresión profiláctica

La inmunosupresión consistió en ciclosporina (CyA) (Sandimmune®) y corticoides. La CyA se comenzó preoperatoriamente a dosis de 2 mg/kg por vía intravenosa (i.v) y se continuó postoperatoriamente a dosis de 1 mg/kg i.v. cada 12 horas, ajustando la dosis para mantener niveles de CyA, en sangre total, entre 200-400 ng/ml (RIA Sandoz anticuerpo monoclonal específico). En el momento de iniciarse el peristaltismo abdominal se inició la administración simultánea de CyA por vía oral (17,5 mg/kg/día dividida en 2 dosis), disminuyendo progresivamente la dosis de CyA i.v. hasta suspenderla entre el día 7-10 del post-trasplante, modificando posteriormente la dosis de CyA oral para mantener niveles de CyA en sangre total entre 200 y 400 ng/ml (RIA Sandoz monoclonal).

La metilprednisolona (Solumoderin®) se administró, intraoperatoriamente, durante la revascularización del injerto, a dosis de 1 g i.v., continuándose postoperatoriamente con 50 mg cada 6 horas i.v. durante el primer día, reduciéndose la dosis paulatinamente hasta alcanzar al día 5-7 del postoperatorio, una dosis de mantenimiento de 20 mg/kg/día de metilprednisolona. Cuando el paciente tolera la medicación oral se

administró prednisona a dosis equivalente por vía oral. La prednisona se mantuvo durante los seis primeros meses a dosis de 20 mg/día; reduciéndose a 15 mg entre el séptimo y decimosegundo mes postrasplante. Trascurrido el año del trasplante, se reduce la dosis de prednisona a 5 mg por día.

## **7.- Protocolo de estudio del deterioro de la función del injerto**

Ante toda alteración en la función del injerto manifestada por el aumento de transaminasas, o por elevación de los niveles de bilirrubina o de gammaglutamil-transpeptidasa, se aplicó un protocolo rutinario para excluir complicaciones de vía biliar (ecografía, estudio con tecnecio-99m-HIDA y colangiografía a través de un tubo de Kehr o retrógrada), en el parénquima (ecografía, tomografía computarizada y biopsia hepática percutánea o transyugular) o en la vascularización del injerto (eco-doppler y arteriografía isotópica o radiológica)

## **8.- Criterios de rechazo**

El diagnóstico de rechazo se realizó siempre mediante biopsia hepática. Los criterios histológicos utilizados para el diagnóstico y graduación del rechazo agudo del injerto fueron los siguientes: a) compatible pero no diagnóstico cuando existía infiltrado portal de células mononucleares, lesión de menos del 50% de los conductos biliares y ausencia de endotelitis; b) rechazo leve ante la presencia de un cuadro similar al anterior pero con endotelitis; c) rechazo moderado cuando existía infiltrado portal de células mononucleares, lesión del conducto biliar

superior al 50%, con o sin endotelitis y d) rechazo severo, ante la existencia de un cuadro similar al del rechazo leve o moderado pero con arteritis, isquemia centrolobulillar o pobreza de conductillos biliares.

#### **9.- Tratamiento del episodio de rechazo**

El rechazo se trató con la administración de 1 g diario de metilprednisolona en embolada, repetido durante 3 ó 4 días. Si hubo respuesta analítica favorable (reducción del más del 50% de los valores alterados) se recicló con metilprednisolona o prednisona a dosis de 200 mg/día el primer día y posterior reducción hasta alcanzar 20 mg/día al sexto día. En caso de no existir respuesta al tratamiento (reducción inferior al 50% de los parámetros alterados), se inició tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3 (Orthoclone®) a dosis de 5 mg/día durante 14 días. En pacientes con respuesta parcial al tratamiento con OKT3 se asoció azatioprina (Imurel®) a dosis de 1-2 mg/Kg/día. En caso de no respuesta tras la administración de anticuerpos monoclonales, se indicó el retrasplante. Antes de iniciar la administración de anticuerpos monoclonales se volvió a confirmar histológicamente la existencia de rechazo en todos los pacientes y la ausencia de otras patologías.

#### **10.- Profilaxis antibiótica**

Todos los pacientes fueron tratados con cefotaxima (4 g/día) y amoxicilina (4 g/día), comenzando inmediatamente antes de la cirugía y manteniéndose durante 2 días. Se realizó descontaminación selectiva intestinal con norfloxacin (400 mg cada 24 h) y nistatina (500.000 U cada 6

h), ambas por vía oral, iniciándose inmediatamente antes del trasplante y manteniéndose hasta el alta hospitalaria.

### **11.- Profilaxis antivírica**

No se realizó ningún tipo de profilaxis contra los virus del tipo herpes.

### **12.- Cultivos de vigilancia**

Durante la primera semana postrasplante se realizaron, diariamente, cultivos para hongos y bacterias, de orina, exudado faríngeo, bilis y drenajes. Posteriormente, y hasta el alta hospitalaria, estos cultivos se realizaron tres veces por semana y siempre que existió pico febril o el paciente estuviera bajo tratamiento antirrechazo con pulsos de metilprednisolona o con anticuerpos monoclonales OKT3. Ante todo pico febril se realizaron, además, hemocultivos seriados. Se llevó a cabo coprocultivo semanalmente hasta el alta hospitalaria y siempre que existió diarrea.

### **13.- Estudio virológico**

Se realizó un estudio prospectivo de las infecciones por virus del grupo herpes (herpes simple, citomegalovirus y herpes zoster), tomándose muestras de orina y exudado faríngeo para cultivo y de sangre para serología, semanalmente durante el primer mes postrasplante, mensualmente durante 6 meses y luego trimestralmente. Siempre que

existió fiebre se realizó cultivo para CMV. En todas las muestras de biopsia hepática se realizó tinción para CMV. El cuerpo de inclusión se identificó con técnica de hematoxilina-eosina en estudio de microscopia de luz convencional, o mediante tinción histoquímica con anticuerpos monoclonales anti-CMV procedentes de ratón (DAKOPATTS®. Dinamarca).

Desde enero de 1988 se realizó broncoscopia y lavado broncoalveolar, con tinción y cultivo para CMV, en todo paciente con patología pulmonar.

#### **14.- Metodología de recogida de muestras para estudio viriológico y técnicas utilizadas**

##### **14.1.- Estudios serológicos**

**14.1.1.- CMV.** El estudio de anticuerpos frente a CMV se realizó mediante la técnica de fijación de complemento con antígeno específico en placas de microtitulación (Jennette). Se consideraron positivos todos aquellos sueros que presentaron anticuerpos a título  $\geq 1/8$ .

Se utilizó una técnica de aglutinación pasiva de partículas de látex sensibilizada con antígeno de CMV, comercializada (CMV SCAN®), en aquellos casos urgentes en los que era necesario conocer de una forma rápida el estado inmunitario del paciente frente a este agente, la existencia de seroconversión, o la elevación del título de forma significativa en dos muestras distintas.

Se determinó la presencia de IgG específica frente a CMV mediante Enzimo-Inmuno-Ensayo (ELISA) en aquellos sueros que presentaron de forma repetida anticomplementariedad, lo que invalidaba la técnica de fijación de complemento, y para confirmar la ausencia de anticuerpos anti-



CMV en aquellas muestras con título  $<1/8$  por fijación de complemento, y no reactivos al látex específico para este agente.

**14.1.2.- VHS.** La presencia de Ac frente a VHS se determinó mediante la técnica de la fijación de complemento con antígeno específico (Jennette). En los sueros anticomplementarios el estudio se realizó mediante Enzimo-Inmuno-Ensayo (ELISA) para detectar anticuerpos anti VHS.

**14.1.3.- VVZ.** El estado inmunitario frente a este agente se estudió mediante Enzimo-Inmuno-Ensayo (ELISA) para IgG específicas.

#### **14.2.- Aislamiento Viral.**

Se remitieron al Laboratorio de Virología de Majadahonda de forma periódica según el protocolo de la CPH las siguientes muestras:

- 1.- Exudado faríngeo en medio de transporte adecuado para aislamiento de virus (Culturette®, Solución de Hanks con SFB).
- 2.- Orina recogida en contenedor estéril, un volumen no inferior a 15 ml.
- 3.- Sangre heparinizada (10 ml) para la obtención de Buffy-Coat y cultivo del mismo, (o para el aislamiento de células leucocitarias y cultivo de las mismas).

En caso de pacientes con sintomatología sugestiva de infección viral se enviaron aquellas muestras más idóneas para cultivo en función del síndrome en estudio.

Las muestras se procesaron, según la metodología empleada en dicho centro, mediante el tratamiento antibiótico (ampicilina, gentamicina y

anfotericina) en aquellas muestras contaminadas con bacterias, previa a la inoculación en las monocapas de fibroblastos, obtención de la capa leucocitaria según técnica descrita por Payá y cols.<sup>147</sup>, e inoculación directa de aquellos líquidos orgánicos estériles.

En todas aquellas muestras portadoras potenciales de CMV se realizó la técnica denominada "Shell-Vial", que consiste en la inoculación de la muestra en unos viales especiales que contienen una lámina de vidrio recubierta por una monocapa de fibroblastos. Se ha comprobado que la infectividad del CMV se incrementa centrifugando a baja velocidad, lo que permite la visualización de las células infectadas mediante el empleo de anticuerpos monoclonales frente a este agente, bien por técnica inmuno enzimática o de inmunofluorescencia, tras 24-48h de incubación, lo que permite un diagnóstico más rápido que el cultivo convencional que puede tardar hasta 4 semanas en desarrollar el efecto citopático característico.

## 15.- Criterios de infección

El diagnóstico de infección se efectuó mediante datos clínicos y de laboratorio. El aislamiento de bacterias en faringe, esputo, aspirado nasotraqueal o drenajes quirúrgicos, sin anomalías clínicas asociadas no se incluyó como infección. La presencia de infección bacteriana se determinó por la existencia de cultivo positivo a partir de una zona normalmente estéril y siempre que el germen aislado se considerara clínicamente importante. Los microorganismos se aislaron e identificaron mediante procedimientos habituales en el laboratorio de microbiología de nuestro hospital. Para el diagnóstico de candidiasis invasiva se requirió su cultivo en sangre o en más de dos localizaciones alejadas anatómicamente, o el aislamiento de *Cándida* a partir del abdomen durante una exploración

quirúrgica, en asociación con peritonitis o absceso abdominal, o la existencia de invasión hística demostrada por biopsia.

La infección primaria por Citomegalovirus se diagnosticó por el aislamiento de virus en sangre, orina, o exudado faríngeo, o por seroconversión en un paciente que era seronegativo antes del trasplante. La infección-reactivación se determinó por un aumento por cuatro veces del título pretrasplante, o por aislamiento del virus en un receptor seropositivo.

La enfermedad clínicamente sintomática originada por la infección por Citomegalovirus se clasificó en los siguientes tipos: a) **síndrome vírico** (evidencia de laboratorio de infección por citomegalovirus junto con fiebre superior a 38°C durante más de 7 días sin otra causa, y la presencia de linfocitos atípicos en cuantía superior al 3%, o leucopenia inferior a 4.000/mm<sup>3</sup> o trombopenia inferior a 100.000/mm<sup>3</sup>; b) **enfermedad localizada** (invasión de un órgano único determinado histológicamente o cultivo de tejido positivo), y c) **enfermedad diseminada** (afección de dos o más lugares no contiguos anatómicamente).

La infección por virus del herpes simple se definió por la presencia de las típicas úlceras sintomáticas, genitales u orales, con citopatología vírica típica. La infección por el virus de la varicella-zoster se determinó clínicamente por la presencia de lesiones típicas en dermatomas.

Las infecciones se dividieron en graves y banales. En las infecciones banales se incluyeron las cistitis, el herpes simple oral, genital u oftálmico, el herpes zoster localizado y la estomatitis candidiásica. Todas las demás infecciones fueron catalogadas como graves.

## **16.- Tratamiento de la infección por herpesviridae**

Las infecciones por herpes simple se trataron con aciclovir (Zovirax®) intravenoso a dosis de 5 mg/kg/día, durante cinco días, a excepción de las mucositis leves que se trataron con 1 g por día, por vía oral, durante 5 días.

La enfermedad por CMV se trató con ganciclovir (Cymevene®) intravenoso, a dosis de 5 mg/kg cada 12 h durante 14 días.

La infección por herpes zoster se trató con aciclovir (Zorivax®) oral a dosis de 4g/día, durante 5 días.

## **17.- Causa de muerte**

Solo se atribuyó una causa de muerte por paciente estudiado. La infección se consideró como causa de muerte si fué el diagnóstico de más importancia establecido en la autopsia, o en los casos en los que no se realizó autopsia, si la infección era el problema clínico más importante en el manejo del paciente justo antes de la muerte. Para identificar una micosis como causa principal de muerte se requirió la demostración histológica de invasión por el hongo o que la infección micótica fuera un problema clínico importante antes de la muerte del paciente.

## 18.- Estudio estadístico

Los datos cualitativos se presentan en tablas de frecuencias y porcentajes. Para las variables continuas se da la media, desviación típica y el intervalo de cada muestra.

Se realizó un contraste de normalidad de las distribuciones mediante el test de Shapiro-Wilk (para muestras pequeñas) y de Kolmogorov (para muestras grandes).

La aceptación o rechazo de la hipótesis de normalidad nos llevó a efectuar contrastes paramétricos o no paramétricos respectivamente. En este trabajo se utilizó la: -  $X^2$  (Chi-cuadrado) de Pearson, para comparación de frecuencias absolutas o relativas, la U de Mann-Whitney para comparar muestras con datos independientes y T de Wilcoxon para comparar muestras con datos relacionados<sup>148</sup>. Todos los contrastes anteriores se utilizaron en el supuesto de que las distribuciones no cumplieran la hipótesis de normalidad. La "T de student" se utilizó cuando se aceptó la hipótesis anterior.

Las curvas de supervivencia del injerto se calcularon mediante el método del producto-límite de Kaplan-Meier, y las comparaciones de estas funciones se realizaron con los métodos de Mantel-Cox y Breslow respectivamente<sup>149</sup>

Se consideraron valores de significación estadística todos aquellos con p inferior 0.05.

Los datos fueron procesados en el Departamento de Bioestadística de la Clínica Puerta de Hierro mediante un ordenador MICROVAX-II (digital).

#### **IV.- RESULTADOS**

## **I.- DATOS GENERALES DE LA POBLACION ESTUDIADA**

### **1.1.- Número de pacientes**

Entre el 1 de Marzo de 1986 y el 31 de Marzo de 1991 se realizaron 110 trasplantes hepáticos (T.H.) en 98 pacientes: 88 recibieron un trasplante, otros 8 pacientes recibieron 2 trasplantes cada uno, y los 2 pacientes restantes recibieron tres trasplantes cada uno, respectivamente. Cuando el intervalo de tiempo transcurrido entre el primer trasplante y el retrasplante fue superior a cuatro meses, se consideraron como dos pacientes distintos. Cuando el intervalo de tiempo entre el primer trasplante y retrasplante fue menor de cuatro meses se consideró como un único paciente.

Nueve de los doce retrasplantes se realizaron antes de los cuatro meses del primer trasplante ( $48.6 \pm 41$  días) (rango 6-120 días) y fueron considerados conjuntamente con el primer trasplante. Los otros tres pacientes recibieron el retrasplante después de nueve meses del primer trasplante ( $333.3 \pm 31.7$  días) (rango 270-365 días) y fueron considerados como pacientes distintos.

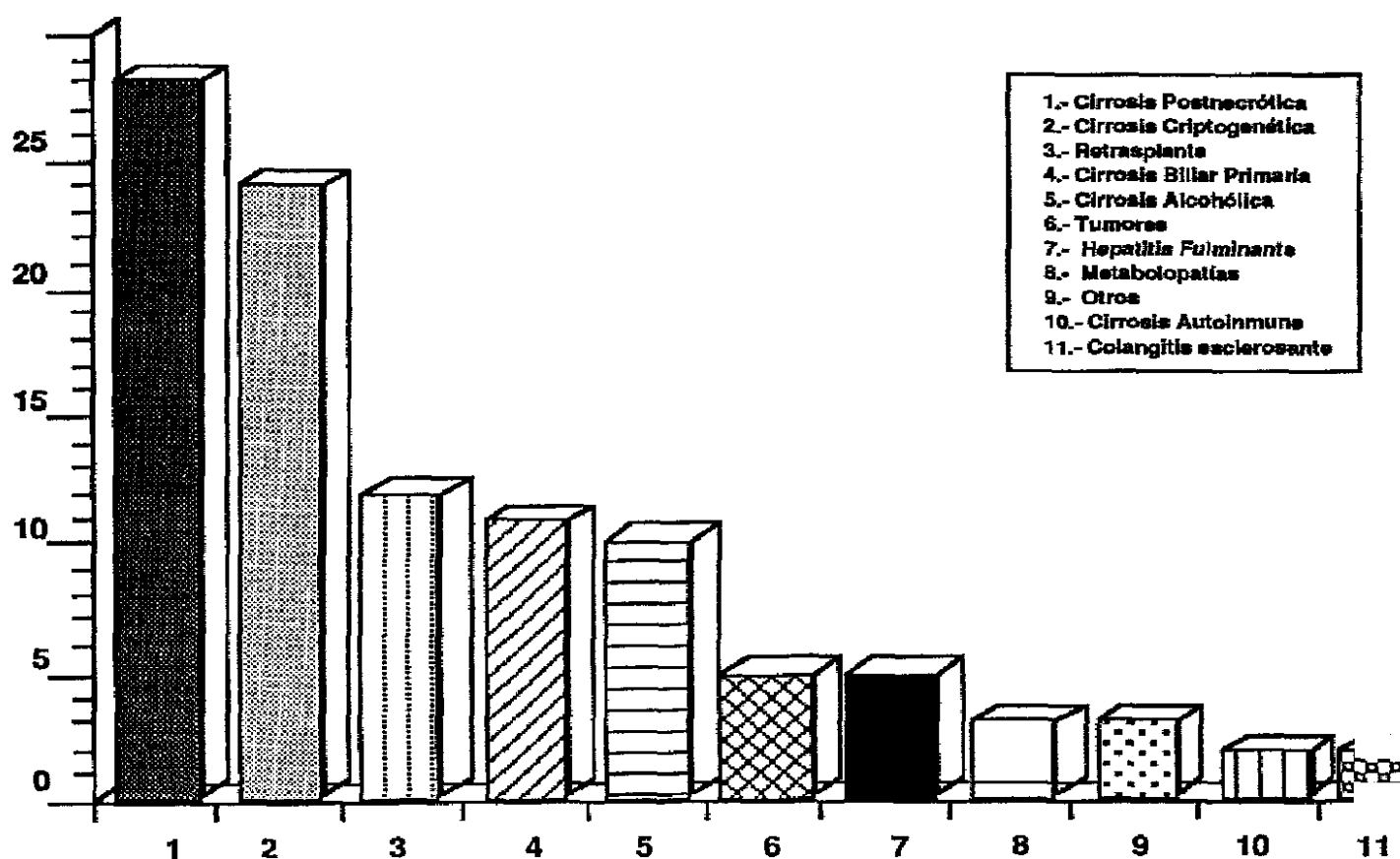
El primer paciente de esta serie fue excluido del estudio por haber recibido un doble trasplante de corazón e hígado. Por lo tanto, la población finalmente estudiada en este trabajo de Tesis Doctoral fue de 100 pacientes.

### **1.2.- Edad**

La edad media de los pacientes fue de  $38.9 \pm 13.4$  años, con unos valores extremos de 10 y 64 años.

### **1.3.- Sexo**

De los 100 pacientes, 57 (57%) eran varones y 43 (43%) eran mujeres.



**Figura 1.- Etiología de la enfermedad de base de los pacientes sometidos a trasplante hepático objeto de este estudio.**

#### **1.4.- Enfermedad de base**

La enfermedad de base que indicó el trasplante en los 100 pacientes está recogida en la Figura 1. La cirrosis de diferente etiología (postnecrótica, criptogenética, alcohólica, etc) constituyó la indicación más frecuente (65.7%), seguida de los tumores hepáticos primitivos y de la hepatitis fulminante.



### **1.5.- Severidad de la Hepatopatía**

En el momento de realizarse el trasplante veintitrés de los 100 pacientes (23%) estaban en un estadio A de la clasificación de Child-Pugh, 33 (33%) estaban en un estadio B y los 44 pacientes restantes (44%) en un estadio C.

### **1.6.- Duración de la cirugía y transfusión intraoperatoria**

La duración media de la cirugía del primer trasplante fue de  $9.47 \pm 2.24$  horas (valores límites 6-14 horas). El volumen de productos hemáticos trasfundidos en el primer trasplante fue de  $14.8 \pm 9.7$  unidades de concentrados de hemátíes;  $11.6 \pm 9.9$  unidades de plasma y  $5.8 \pm 5.6$  unidades de plaquetas.

Veinticinco de los 100 pacientes (25%) fueron extubados antes de las 24 horas postrasplante. Otros veinticinco pacientes (25%) permanecieron con ventilación mecánica durante 24-48 horas. Trece pacientes (13%) permanecieron intubados entre 48-72 horas y en los 37 pacientes restantes (37%), la intubación se prolongó más de 72 horas.

### **1.7.- Tiempo de seguimiento**

El tiempo medio global, de seguimiento postrasplante, fue de  $17.5 \pm 16.7$  meses (rango 0.3-64.7 meses), con una mediana de 13.5 meses. El seguimiento medio de los pacientes vivos fue de  $27.9 \pm 13.6$  meses (rango 6-64.7 meses) mientras que los pacientes fallecidos tuvieron un seguimiento medio de  $2.3 \pm 4.5$  meses (rango 0.3-22.9 meses).

### **1.8.- Supervivencia**

La supervivencia global de nuestros pacientes fue del 60% (60/100) siendo la supervivencia actuarial a los cinco años del trasplante del 60.3%.

## **2.- INCIDENCIA Y SIGNIFICADO DE LA INFECCION POR HERPESVIRIDAE**

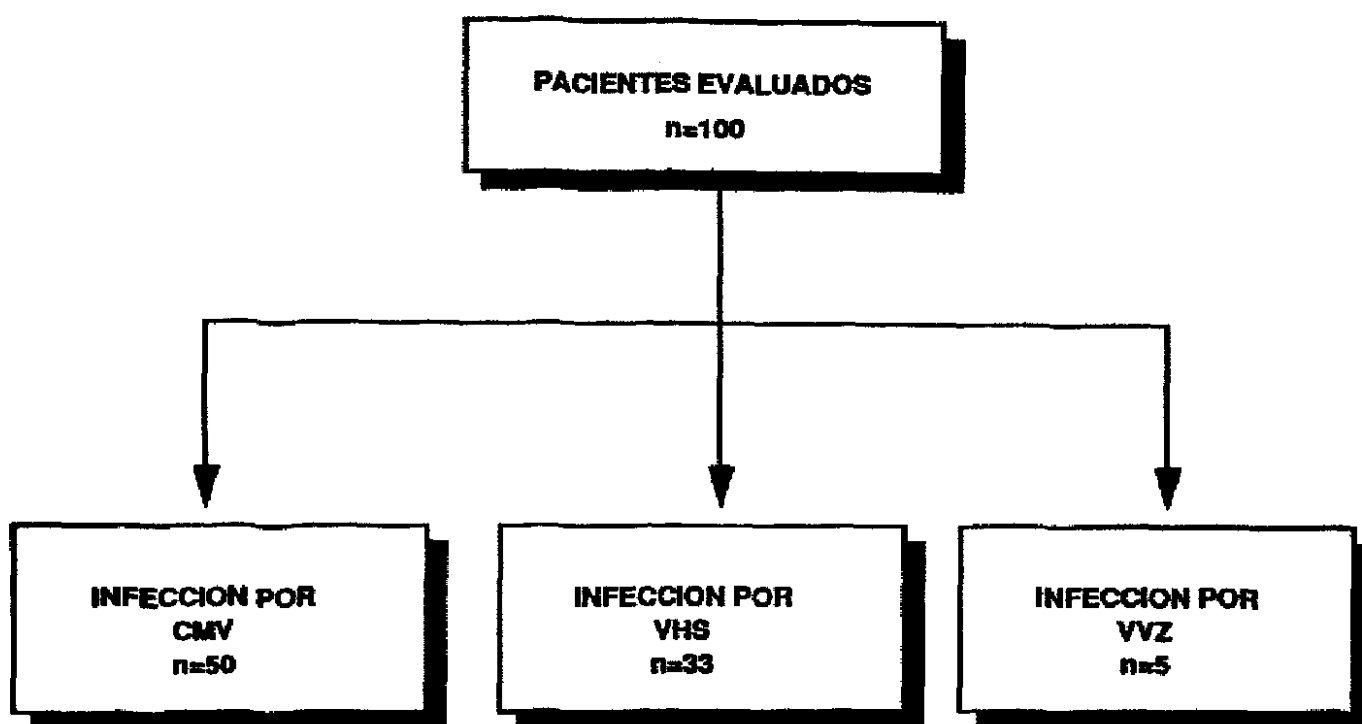
### **2.1.- Prevalencia y tiempo postrasplante de aparición de la infección por CMV**

Cincuenta (29 varones y 21 mujeres) de los 100 pacientes estudiados (50%) sufrieron infección por CMV durante el período de estudio (Tablas IV, V).

### **2.2.- Prevalencia y momento postrasplante de aparición de la enfermedad por CMV**

Veinticinco pacientes desarrollaron 27 episodios de enfermedad por CMV, ya que dos pacientes sufrieron dos episodios cada uno. Ello supone que el 25% de los pacientes desarrollaron enfermedad por CMV, y una incidencia global de 0.27 episodios de enfermedad por CMV por paciente. Quince de los pacientes con enfermedad por CMV (60%) eran varones y 10 (40%) eran mujeres. El tiempo de aparición de la enfermedad por CMV en nuestra experiencia osciló entre la primera y la decimosegunda semana postrasplante, con una media de  $49.5 \pm 20.3$  días (rango 14-90 días).

**Tabla IV. Prevalencia de infección por herpesviridae en pacientes con trasplante hepático.**



El 84% de los episodios aparecieron entre la cuarta y la octava semana, especialmente en ésta última, en la que existieron 13 episodios, lo que supone un riesgo de padecer enfermedad por CMV de 0.17 episodios por paciente en riesgo, en dicha semana. (Figura 2)

### **2.3.- Prevalencia y tiempo de aparición de la infección por VHS.**

De los pacientes estudiados, 33 (33%) desarrollaron infección por VHS. (Tablas IV, V).

Dieciseis de estos 33 pacientes (49%) eran varones y 17 (51%) eran mujeres.

**Tabla V.- Incidencia y significado de la infección por herpesviridae en 100 trasplantes hepáticos consecutivos**

	CMV		VHS	VVZ
	Inf	Enf		
<b>Incidencia</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>	<b>33%</b>	<b>5%</b>
<b>Días post-TH de aparición</b>	<b>55.5±41.6</b>	<b>49.5±20.3</b>	<b>17.2±20.3</b>	<b>150±15.2</b>
<b>Mortalidad</b>	<b>0%</b>	<b>37%</b>	<b>3%</b>	<b>0%</b>

En nuestra experiencia la infección por VHS apareció a los  $17.2 \pm 20.3$  días postrasplante (rango 5-60 días). El 73% de los episodios aparecieron entre la cuarta y la octava semana, con especial incidencia en la cuarta, en la que se objetivaron 17 episodios, lo cual supone un riesgo de padecer infección por VHS de 0.2 episodios por paciente en riesgo en dicha semana y en nuestra experiencia (Figura 3).

El tiempo medio de aparición de la infección por CMV fue de  $55.5 \pm 41.6$  días postrasplante (rango 7-270 días). El 66% de los episodios aparecieron entre la cuarta y octava semana postrasplante. Durante la octava semana 16 pacientes sufrieron infección por CMV, lo cual supone un riesgo de padecer infección por CMV de 0.21 episodios por paciente en nuestra serie, en dicha semana (Figura 4)

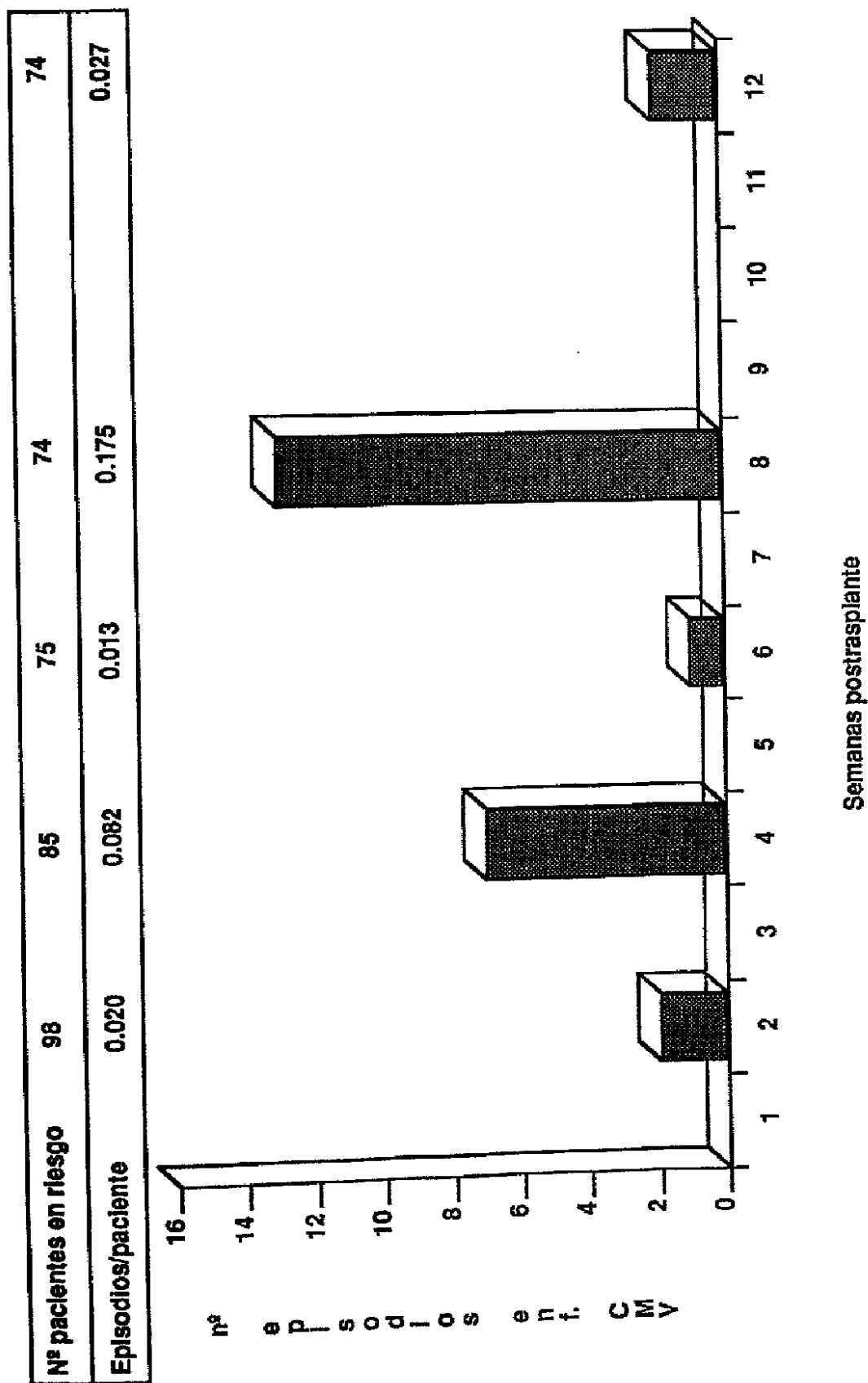


Figura 2.- Enfermedad por CMV. Tiempo de aparición y nº de episodios por paciente en riesgo, en trasplantados hepáticos.

P. riesgo	100	98	74	66	65	65	63	63	63
Epl/pac.	0.01	0.03	0.2	0.08	0.03	0.01	0.04	0.04	0.04

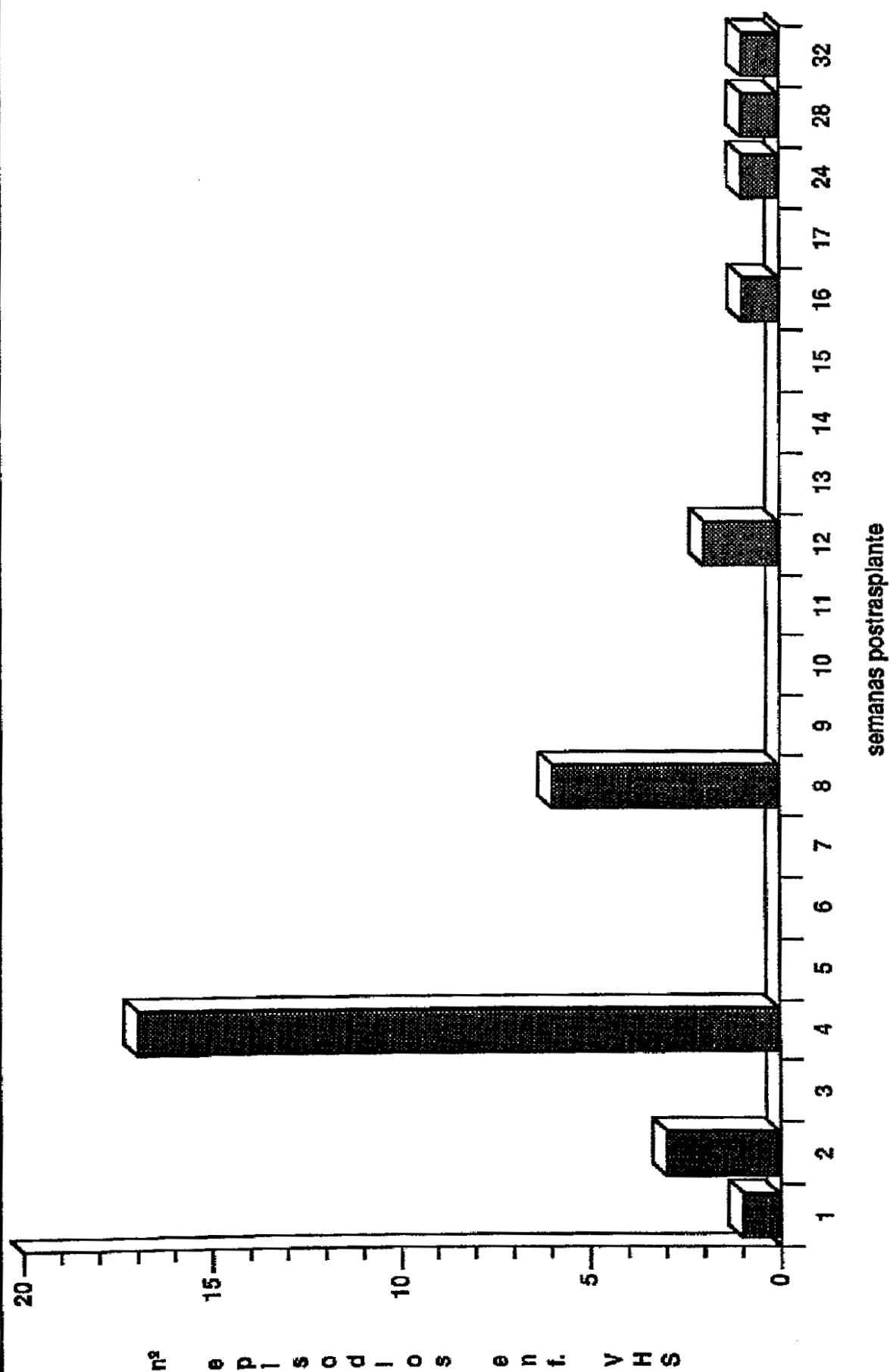


Figura 3.- Infección por VHS. Tiempo de aparición de los episodios de infección por VHS

Nº pacient. en riesgo	100	85	74	66	63	63
Episodios/paciente	0.02	0.16	0.21	0.075	0.047	0.031

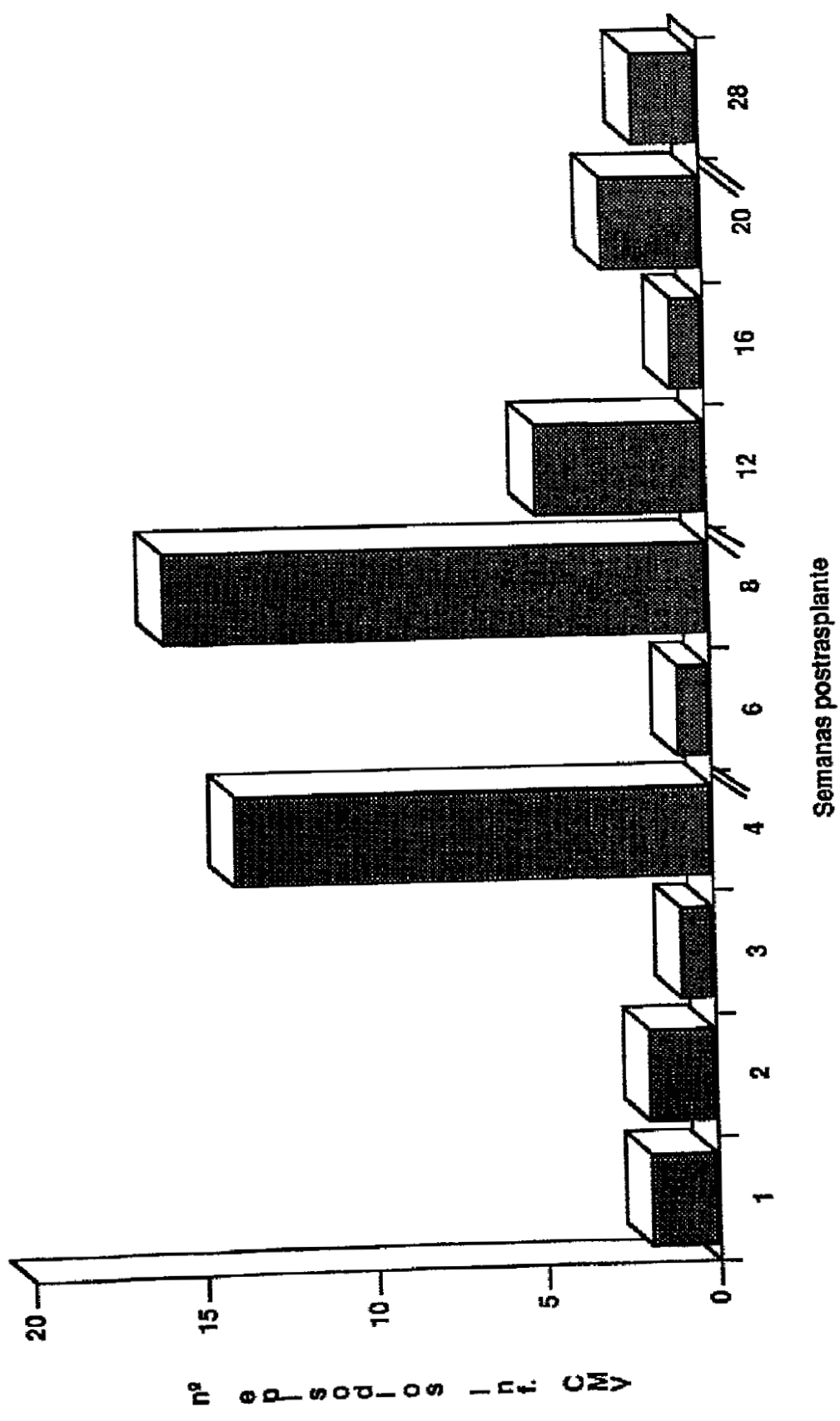


Figura 4.- Infección por CMV. Tiempo de aparición y nº de episodios por paciente en riesgo en trasplantados hepáticos.

## **2.4.- Prevalencia y tiempo de aparición de la infección por VVZ**

Nuestra experiencia en este apartado se reduce a 5 (5%) casos de esta enfermedad en tres pacientes (tres mujeres y un varón) ya que uno de ellos sufrió dos episodios (Tablas IV y V). El tiempo medio de aparición de esta enfermedad fue de  $150 \pm 15.2$  días (rango 90-180 días).

## **2.5.- Prevalencia global de la infección por herpesviridae**

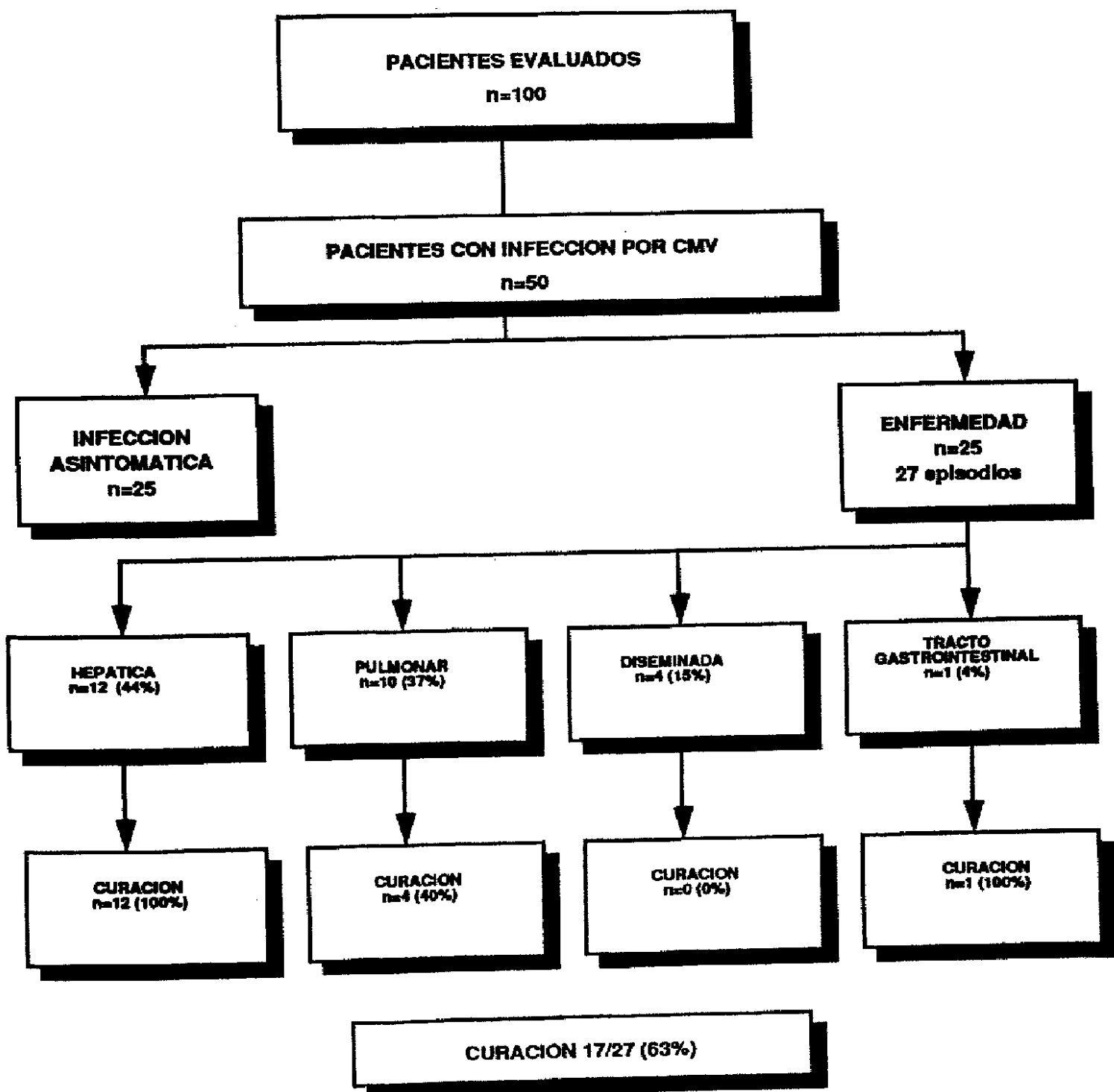
De todos los pacientes con enfermedad por CMV e infección por VHS, 9 (33%) presentaron ambas complicaciones, 16 (66%) tuvieron enfermedad por CMV y no infección por VHS, 24 (28%) tuvieron infección por VHS y no enfermedad por CMV y finalmente 72 (62%) no presentaron ninguna de las dos complicaciones. No existen diferencias significativas en el estudio estadístico de estos grupos.

## **2.6.- Localización de la enfermedad por CMV.**

La localización más frecuente de la enfermedad por CMV fue el hígado ( $n=12$  casos, 44%), seguido del pulmón ( $n=10$  casos, 37%), y el tracto gastrointestinal (T.G.I.) ( $n=1$  caso, 4%) (Tabla VI). En 4 pacientes (15%) la enfermedad por CMV fue diseminada, afectando a pulmón e hígado simultáneamente. La enfermedad pulmonar por CMV apareció más precozmente que las otras localizaciones, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). El tiempo medio pos-trasplante de aparición de la hepatitis por CMV fue  $66.6 \pm 27.4$  días (rango 30-120 días), el de la neumonitis  $42 \pm 17$  días (rango 15-60 días) y el de la enfermedad diseminada de  $41.2 \pm 22.5$  días (rango 15-60 días) (Figura 5).



**Tabla VI.- Localización y evolución de la enfermedad por CMV en pacientes con trasplante hepático**



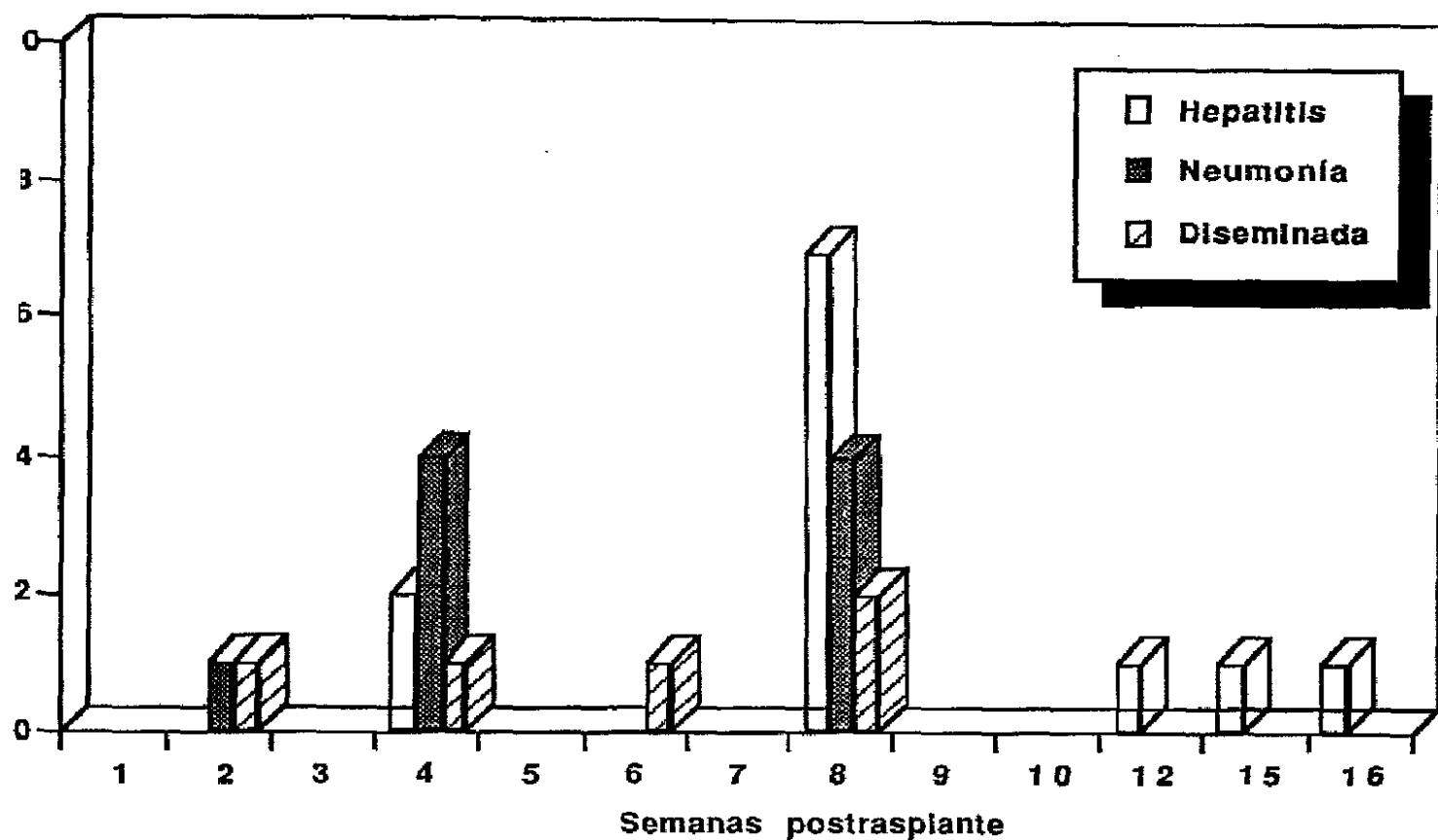


Figura 5.- Tiempo de aparición y nº de episodios, según localización, de la enfermedad CMV en pacientes sometidos a trasplante hepático.

## 2.7.- Diagnóstico y evolución de la enfermedad por CMV

En 20 casos (74%) el diagnóstico de enfermedad por CMV se estableció clínicamente, y se instauró tratamiento con ganciclovir, consiguiéndose curación en 17 (85%), y fracaso terapéutico en los 3 (15%) restantes (Tabla VI). En los 7 pacientes restantes (26%), el diagnóstico se realizó en la autopsia.

Analizando más detalladamente estos resultados en cuanto a localización de la enfermedad, observamos que de los 27 casos, 12 fueron hepatitis, todas ellas tratadas y curadas; 10 neumonitis, de las cuales 6 se trataron, curando 4 y falleciendo 2; y 4 no tratadas que fallecieron las cuatro; una afectación del tracto gastrointestinal (T.G.I.) que se trató y curó; y finalmente, 4 casos de enfermedad diseminada, una de ellas tratada y a pesar de ello falleció, y tres no tratadas que así mismo fallecieron (Tabla VII).

En cuanto al tratamiento con ganciclovir en relación con la evolución existe una diferencia muy significativa estadísticamente ( $p < 0.001$ ) a favor del grupo tratado. (Tabla VIII)

Comparando la localización entre hígado y pulmón y la evolución, no existe diferencia significativa ( $p > 0.10$ ), a pesar de que las 12 hepatitis se curan y sólo 4 de las seis neumonitis tratadas se curan; es posible que esto se deba a un número no suficiente de casos.

En seis de los 7 casos en los que no se estableció el diagnóstico premortem y por tanto no fueron tratados, el CMV se consideró la causa fundamental de muerte. (Tabla IX)

Si dividimos la localización en abdominal solo, y pulmonar sólo o diseminada en relación a la evolución existe una diferencia levemente significativa ( $p < 0.10$ ) a favor del primer grupo.

Sólo hubo un caso de primoinfección por CMV en un paciente joven de 15 años, afecto de hepatocarcinoma y que recibió dos ciclos de quimioterapia (adriamicina).

La supervivencia actuarial a los cinco años de los pacientes sin enfermedad por CMV (60.3%) fue similar a la del grupo con enfermedad por CMV (52%).

**Tabla VII.- Evolución de los pacientes con enfermedad por CMV dependiendo de la localización y de la existencia o no de tratamiento.**

<b>Localización CMV</b>	<b>n°</b>	<b>Trat. Ganciclovir</b>	<b>Curación</b>
<b>Hígado</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>
<b>Pulmón</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>4</b>
<b>Diseminada</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>T.G.I.</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

**p>0.10**

**Tabla VIII.- Evolución de los pacientes con enfermedad por CMV.**

<b>Tratamiento con Ganciclovir</b>	<b>Evolución CMV</b>	
	<b>Vivos</b>	<b>Fallecidos</b>
<b>SI</b>	<b>17</b>	<b>3</b>
<b>No</b>	<b>0</b>	<b>7</b>

**p< 0.001**

**Tabla IX.- Influencia del CMV en la causa de muerte en pacientes con enfermedad por CMV no diagnosticada premortem.**

<b>Nº Paciente</b>	<b>Localización CMV</b>	<b>Causa de muerte</b>	<b>Importancia del CMV en muerte</b>
<b>6</b>	<b>Pulmón</b>	<b>Sepsis por cándida + Neumonitis CMV + Pancreatitis</b>	<b>SI</b>
<b>15</b>	<b>Pulmón</b>	<b>Hemoperitoneo</b>	<b>No</b>
<b>57</b>	<b>Diseminada</b>	<b>Sepsis por cándidas + CMV + F.M.O.*</b>	<b>SI</b>
<b>74</b>	<b>Pulmón</b>	<b>Neumonitis por CMV</b>	<b>SI</b>
<b>76</b>	<b>Diseminada</b>	<b>Sepsis por CMV + F.M.O.</b>	<b>SI</b>
<b>90</b>	<b>Diseminada</b>	<b>Sepsis por CMV + F.M.O.</b>	<b>SI</b>
<b>94</b>	<b>Diseminada</b>	<b>Sepsis por CMV + F.M.O.</b>	<b>SI</b>

**El CMV fue la causa fundamental de muerte en 6 de los 7 pacientes en los que no se diagnosticó premortem la enfermedad por CMV.**

**\*FMO: fracaso multiorgánico**

## 2.8.- Localización, tratamiento y evolución de la infección por VHS

La localización más frecuente de la infección por VHS fue la mucocutánea (17 casos, 51.4%) en forma de herpes labial fundamentalmente (Figura 6) y perineal (Figura 7), seguida de la estomatitis (9 casos, 27.2%) (Figura 8), la localización pulmonar (4 casos, 12%), esofágica (2 casos, 6%), y ocular (queratitis en ojo derecho, 1 caso, 3%).

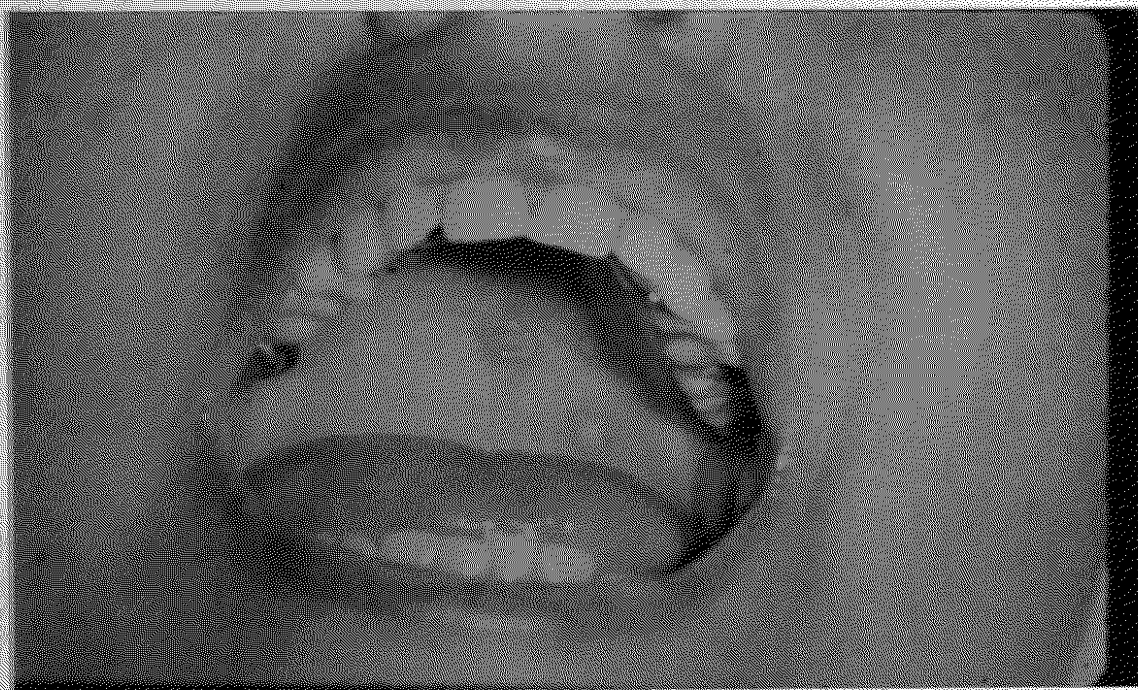


Figura 6: Herpes labial





**Figura 7: Herpes simple de localización perineal**



**Figura 8: Estomatitis herpética**

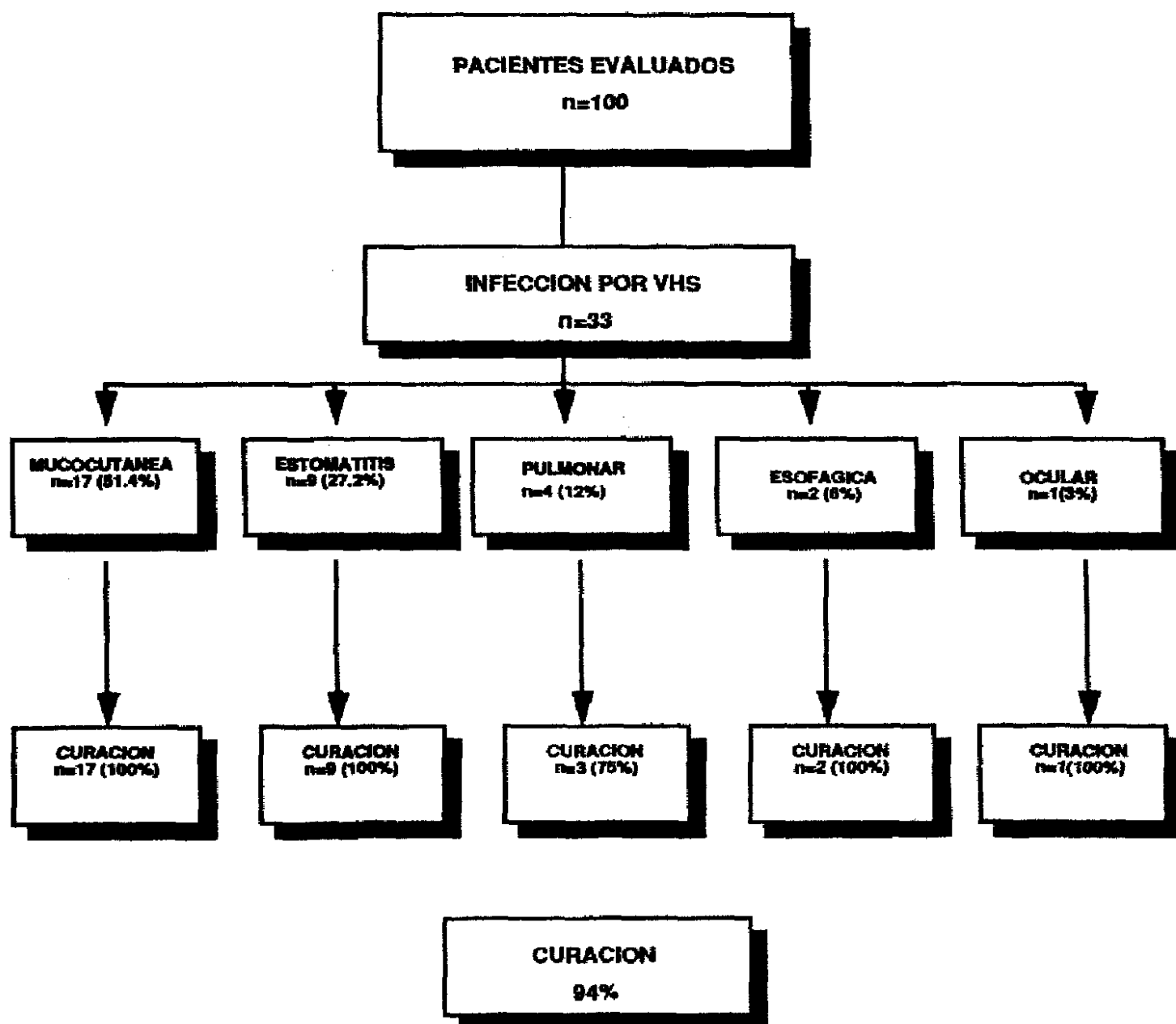
Todos los casos excepto uno fueron diagnosticados, mediante la exploración física del paciente y el cultivo de las lesiones.

El tratamiento se realizó con aciclovir intravenoso a dosis de 5 mg/kg/día durante 5 días, a excepción de las mucositis leves que se trataron con un gramo por vía oral durante 5 días. Fueron tratados todos excepto uno de los pacientes (96.9%) obteniéndose curación en el 94% (30/32) de los pacientes tratados (Tabla X). El paciente afecto de queratitis herpética en ojo derecho no respondió al tratamiento con aciclovir, siendo tratado con vidarabina y obteniéndose curación. El otro paciente que no respondió al tratamiento tenía afectación esofágica.

El único paciente que no fue tratado con aciclovir falleció por afectación pulmonar por VHS asociada a neumonitis por CMV y el diagnóstico fue establecido en la autopsia.



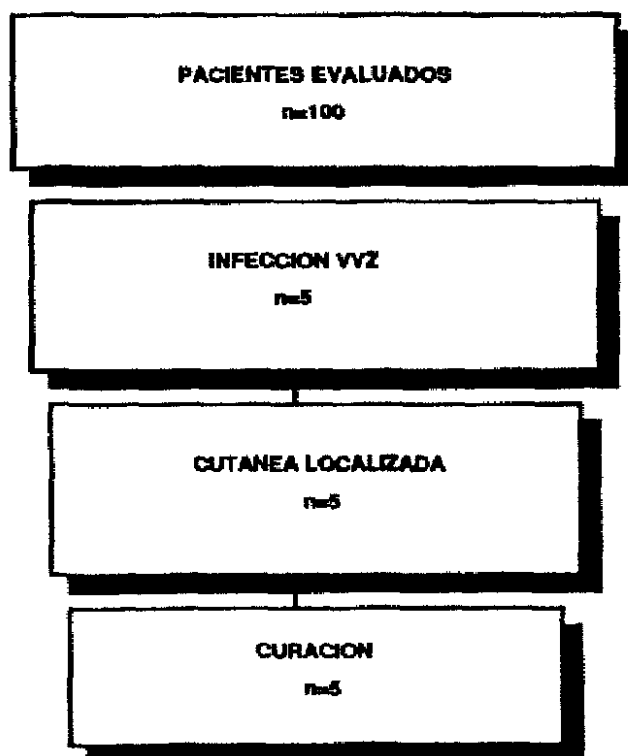
**Tabla X.- Localización y evolución de la Infección por virus herpes simple (VHS) en pacientes con trasplante hepático**



## 2.9.- Localización, tratamiento y evolución de la infección por VVZ

De los cinco casos de infección por VVZ, tres de ellos se localizaron en nalgas y los dos restantes en brazo y espalda. El diagnóstico fue clínico en todos los casos mediante exploración física determinada por la presencia de lesiones típicas en dermatomas. El tiempo medio de aparición de la infección por VVZ fue de  $150 \pm 15.2$  días postrasplante (rango 120-180 días). El tratamiento se realizó con aciclovir (4g diarios durante cinco días), a las dosis ya mencionadas obteniéndose curación de todos los casos sin secuelas (Tabla XI). Ninguno de nuestros pacientes desarrolló Zoster diseminada.

Tabla XI.- Localización y evolución de la Infección por virus Varicella-zoster (VVZ) en pacientes con trasplante hepático



**Tabla XII.- Factores de riesgo de desarrollar enfermedad por CMV en pacientes con trasplante hepático.**

	Con CMV (n=25)	Sin CMV (n=75)	P
Edad (a)	40.5± 12.2	38.4±13.7	NS
Sexo v/m	15/10	41/34	NS
Enfermedad de base			
Cirrosis	16	59	NS
Tumor	2	3	NS
Enf. metabólica	1	3	NS
Otros	6	10	NS
P. con Rechazo	88%	81%	NS
P. con OKT3	56.5%	30.8%	<0.05
P. con AZA	40.7%	27.6%	NS
Bolus (g)	3.1±0.6	3.1±0.4	NS
Donante CMV +	50%	68%	NS
Receptor CMV +	76%	80%	NS
Transf. intraop.			
C. Hematías (u)	17.4±13.6	13±8	NS
Plasma (u)	14.3±11.6	10.7±5.4	NS
Plaquetas (u)	0.07±5.9	5±5.6	NS
Crioprecip. (u)	2.5±4.01	1.3±2.5	NS

### 3.- FACTORES DE RIESGO DE DESARROLLO DE ENFERMEDAD POR VIRUS DEL GRUPO HERPESVIRIDAE

#### 3.1.- Factores de riesgos en la enfermedad por CMV

Para analizar estos factores dividimos a los pacientes en dos grupos: grupo 1 constituido por los 25 pacientes con enfermedad por CMV y grupo 2 formado por los 75 pacientes restantes sin enfermedad por CMV.

Los factores analizados fueron: edad, sexo, enfermedad de base, episodios de rechazo, tipo y dosis de inmunosupresión, estado CMV del donante, estado CMV receptor y volumen de transfusión intraoperatoria. El único factor con valor estadístico fue la existencia de tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3 ( $p<0.05$ ) (Tabla XII)

**Tabla XIII.- Factores de riesgo de desarrollar infección por VHS en pacientes con trasplante hepático.**

	Con VHS (n=33)	Sin VHS (n=67)	P
Edad (a)	41± 13	37±13	NS
Sexo v/m	15/18	40/29	NS
Enfermedad de base			
Cirrosis	26	49	NS
Enf. Metabólica	2	2	NS
Otros	5	16	NS
P. con Rechazo	90%	79%	NS
P. con OKT3	53.3%	30%	<0.05
P. con AZA	42.4%	25%	NS
Bolus (g)	3.1±0.6	3.1±0.4	NS
Transf. Intraop.			
C. Hematíes (u)	16.9±13.2	13.3±7.9	NS
Plasma (u)	13.7±10.8	10.4±5.1	NS
Plaquetas (u)	0.06±5.4	4.8±5.2	NS
Crioprecip. (u)	2.5±3.5	1.3±2.0	NS

### 3.2.- Factores de riesgo en la infección por VHS

A fin de analizar estos factores dividimos a los pacientes en dos grupos: grupo 1 formado por los 33 pacientes con infección por VHS, y grupo 2 constituido por los 67 pacientes restantes, sin infección por VHS.

Los factores analizados fueron: edad, sexo, enfermedad de base, episodios de rechazo, tipo y dosis de inmunosupresión y volumen de transfusión intraoperatoria. El único parámetro significativamente distinto entre ambos grupos fue la existencia de tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3 ( $p<0.05$ ) (Tabla XIII).

#### **4.- RELACION ENTRE CMV Y RECHAZO**

##### **4.1.- Frecuencia de rechazo**

El 83% de los pacientes presentaron al menos un episodio de rechazo del injerto durante el período de estudio (todos ellos confirmados mediante biopsia). En total se detectaron 115 episodios de rechazo (1.15 episodios por paciente y 1.38 episodios por paciente con rechazo). De los 115 episodios de rechazo, 92 (80%) fueron primeros episodios y los 23 restantes (20%) fueron segundos episodios.

##### **4.2.- Tiempo de aparición del rechazo**

Setenta y dos de los 92 primeros episodios de rechazo (78%) aparecieron en la primera semana postrasplante, otros 12 episodios (13%) aparecieron en la segunda semana y sólo 8 episodios (9%) fueron más tardíos (Figura 9). Esto supone que, en nuestra experiencia, el 91% de los episodios de rechazo aparecieron durante los primeros 15 días postrasplante.

##### **4.3.- Respuesta al tratamiento del primer episodio de rechazo**

Los 92 episodios de rechazo fueron tratados con emboladas de 1 gramo diario de metilprednisolona, respondiendo 58 de ellos (63%) (Tabla XIV). El 91% de nuestros pacientes con rechazo recibió tres gramos de metilprednisolona en días consecutivos, y el 9% recibió más de tres gramos.

Los treinta y cuatro pacientes restantes (27%) tuvieron rechazo corticorresistente y fueron tratados con anticuerpos monoclonales OKT3, obteniéndose éxito terapéutico en 30 de ellos (88.2%).

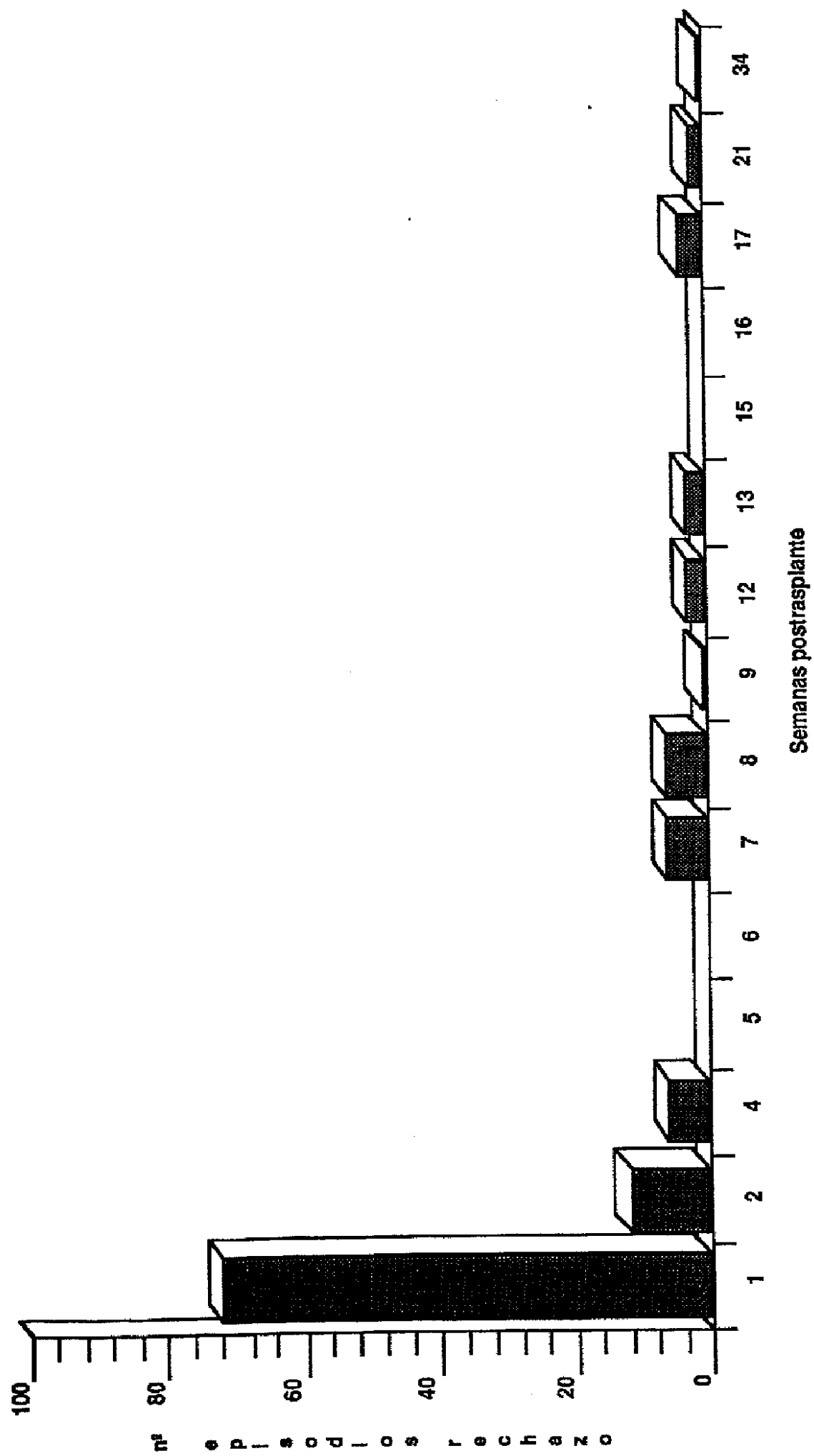


Figura 9.- Tiempo de aparición de los episodios de rechazo

Dos de los cuatro pacientes que no respondieron a OKT3 fueron retrasplantados con éxito, y los dos pacientes restantes fallecieron por causas ajenas al rechazo, sin haber completado el tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3.

Cuando la respuesta al tratamiento con OKT3 fue parcial, se añadió azatioprina, lo que ocurrió en el 38% de los pacientes tratados con OKT3. El momento en que se inició este tratamiento con azatioprina osciló entre la 1 y la 30 semana, aunque en el 80% de los casos el tratamiento se inició entre la segunda y cuarta semana postrasplante.

En total, la respuesta al tratamiento médico del primer episodio de rechazo fue del 95.6% (88/92).

#### **4.4.- Respuesta al tratamiento del segundo episodio de rechazo**

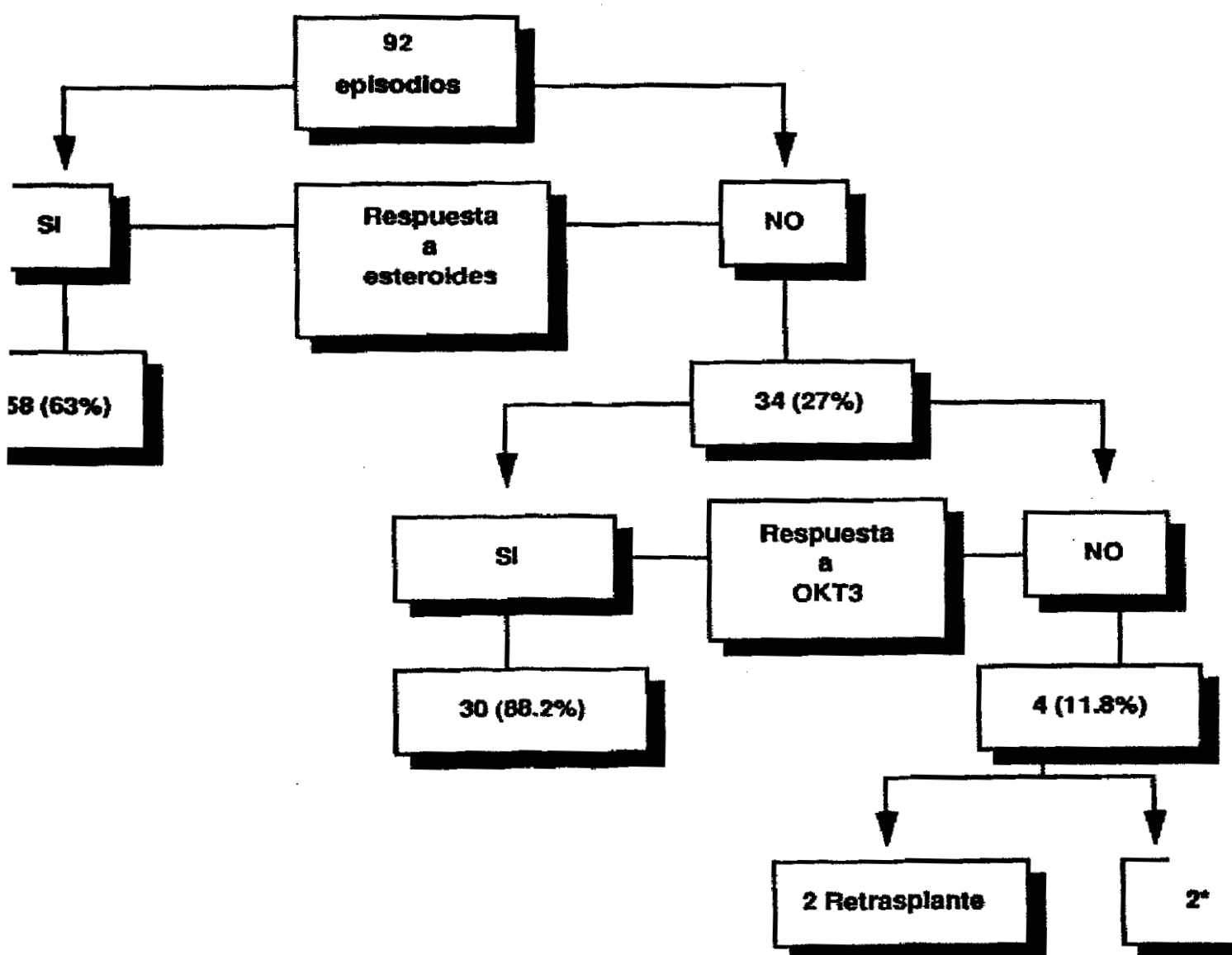
Veintitrés de nuestros pacientes (23%) desarrollaron un segundo episodio de rechazo. La evolución tras el tratamiento se resume en la Tabla XV.

En conjunto, ciento nueve de los 115 episodios de rechazo (95%) se controlaron con medicación, existiendo fracaso terapéutico en los seis episodios restantes (5%) (Tabla XVI).

#### **4.5.- Tiempo de aparición de la infección por CMV y del rechazo**

El rechazo del injerto apareció más precozmente ( $7.2 \pm 3$  días) que la infección por CMV ( $55.5 \pm 41.6$  días) (Figura 10).

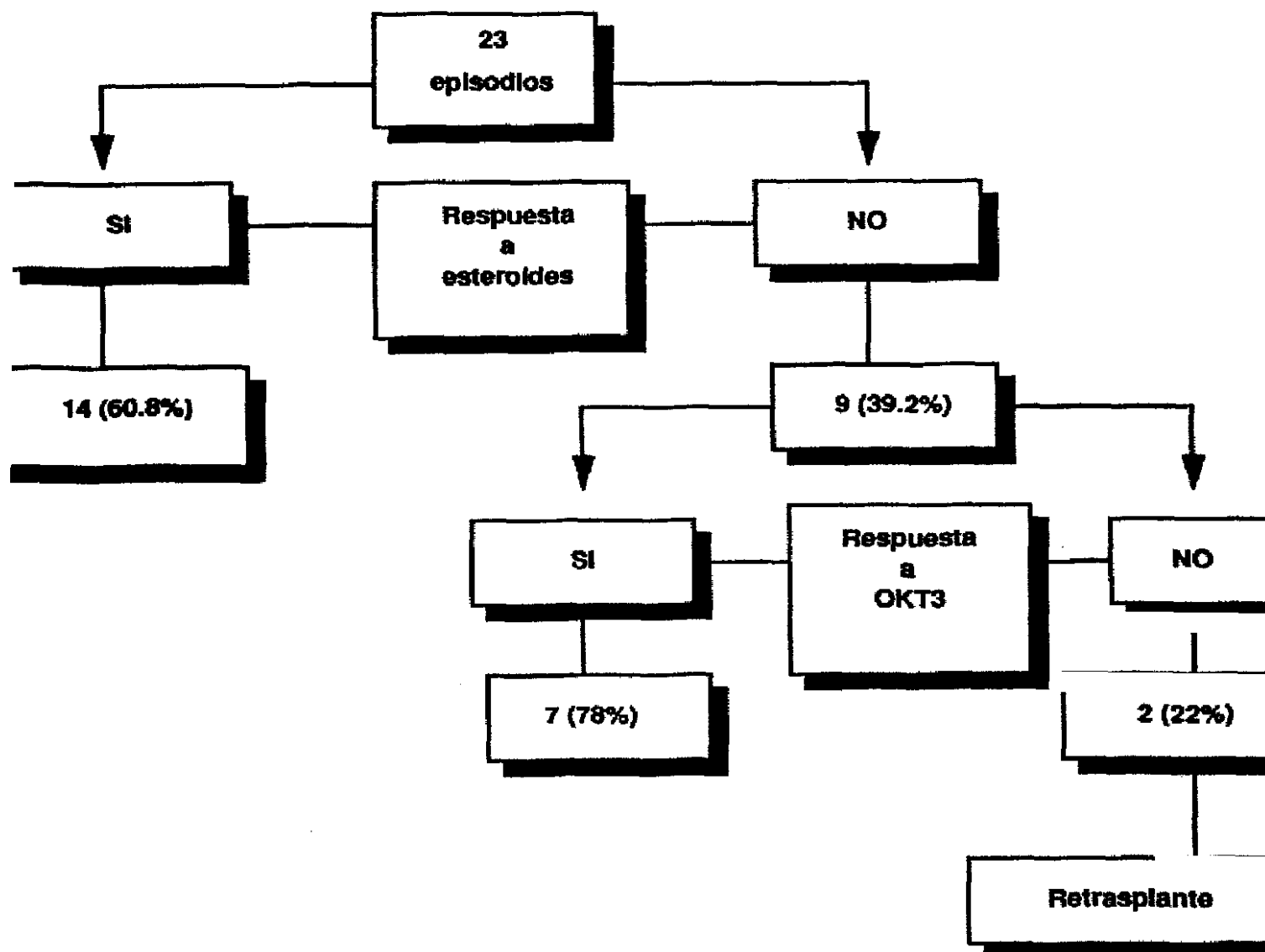
**Tabla XIV.- Respuesta al tratamiento y evolución del primer episodio de rechazo del Injerto hepático**



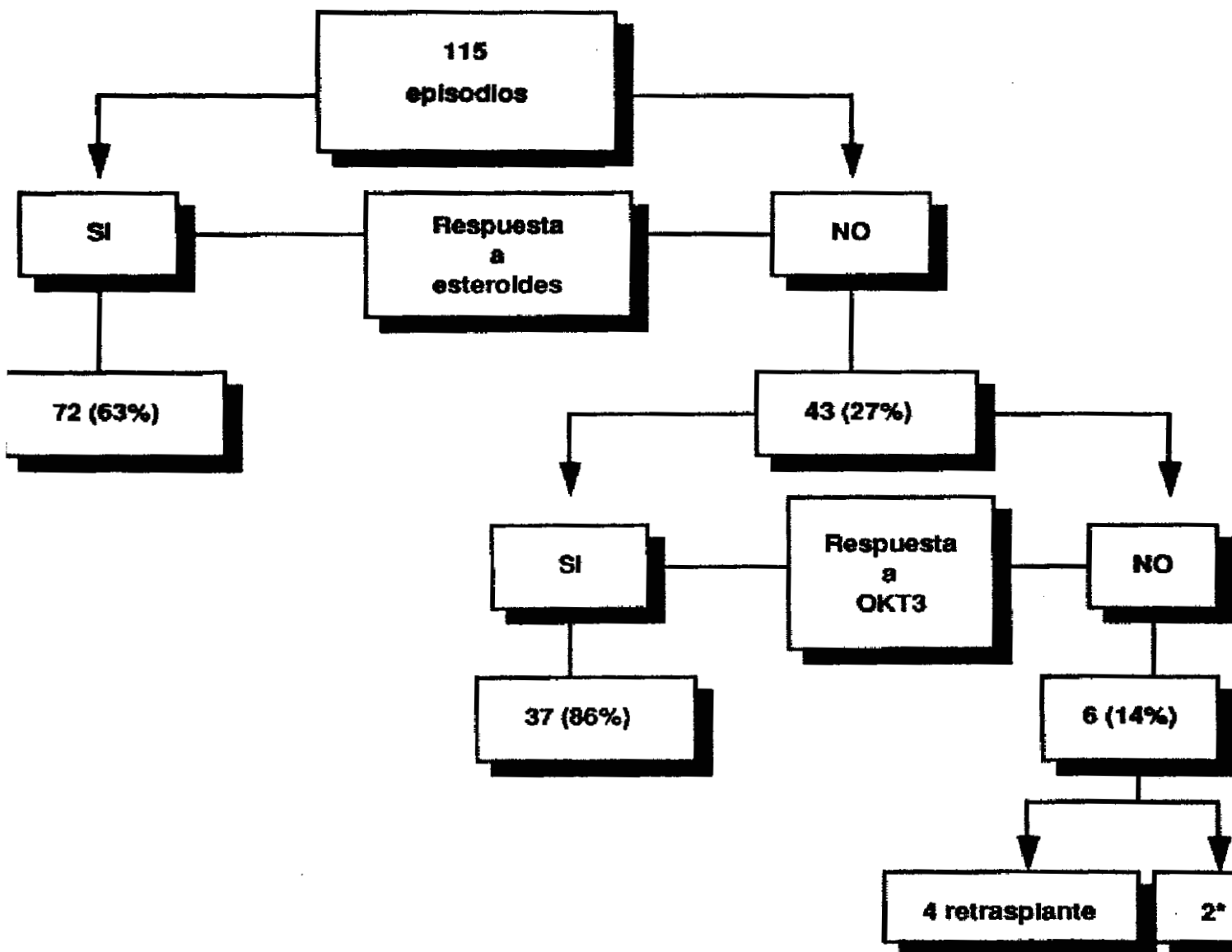
\* Fallecidos por causas ajenas al rechazo sin haber completado el tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3



**Tabla XV.- Respuesta al tratamiento y evolución del segundo episodio de rechazo del injerto hepático**



**Tabla XVI- Respuesta global al tratamiento y evolución de los episodios de rechazo del injerto hepático**



\* Fallecidos por causas ajenas al rechazo sin haber completado el tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3

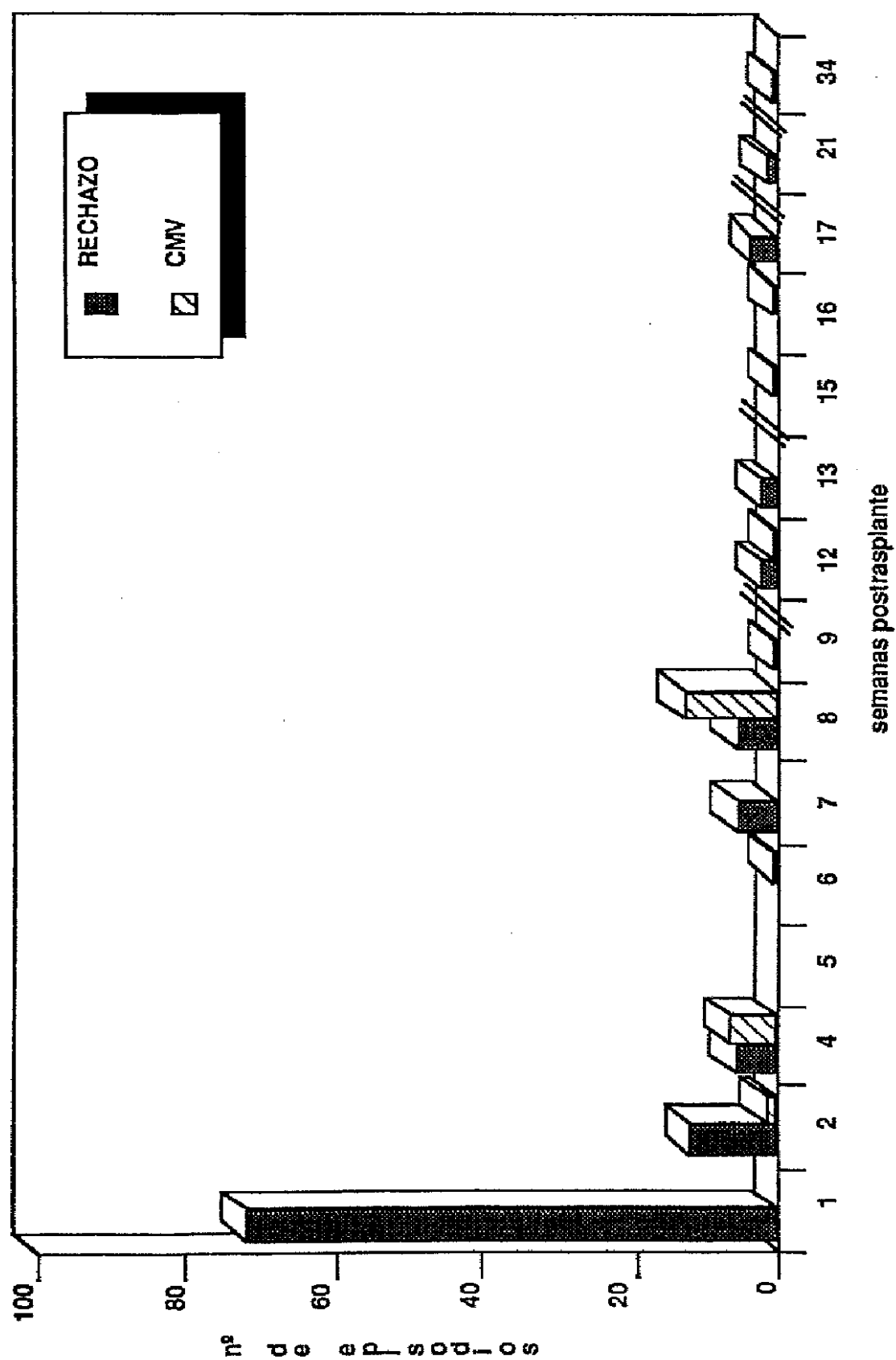


Figura 10.- Tiempo de aparición de los episodios de rechazo del injerto y de la enfermedad por CMV en pacientes con trasplante hepático

**4.6.- Incidencia de rechazo en los pacientes que presentaron infección por CMV y en los pacientes que no desarrollaron esta complicación.**

En cuanto a la incidencia de rechazo entre ambos grupos con y sin enfermedad por CMV no hubo diferencia significativa, como tampoco la hubo en la evolución de dicho rechazo (Tabla XVII).

**Tabla XVII.- Relación entre el rechazo y la enfermedad por CMV en pacientes con trasplante hepático.**

<b>Pacientes con Rechazo</b>	<b><u>Enfermedad CMV</u></b>	
	<b>SI</b>	<b>No</b>
<b>SI</b>	<b>22</b>	<b>61</b>
<b>No</b>	<b>3</b>	<b>14</b>

**p= N.S.**

## **5.- ESTUDIO DE LAS SECUELAS CRÓNICAS EN EL INJERTO POR EL CMV**

### **5.1.- Modificaciones del perfil bioquímico en la enfermedad por CMV**

Para estudiar las posibles secuelas crónicas en el injerto inducidas por la enfermedad por CMV, se realizó un seguimiento de los pacientes de ambos grupos, haciendo determinaciones de: transaminasas (GOT, GPT), gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) y bilirrubina total (BIL) al primero, tercero, sexto y decimosegundo mes postrasplante.

Al tercer mes postrasplante se observó una elevación significativa de ASAT (GOT), ALAT (GPT), gamma-GT y en el primer mes de bilirrubina total en los pacientes con enfermedad por CMV respecto a los pacientes que no habían desarrollado esta complicación (Tablas XVIII, XIX, XX y XXI).

A partir del sexto mes, no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados, entre los pacientes con enfermedad y los pacientes sin enfermedad por CMV (Tablas XVIII, XIX, XX y XXI).

**Tabla XVIII.- Evolución postrasplante de los valores séricos de ASAT (u/l) en trasplantados hepáticos según que hayan desarrollado o no enfermedad por CMV.**

**ASAT (U/l)**

<b>Meses postrasplante</b>	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>3<sup>a</sup></b>	<b>6<sup>a</sup></b>	<b>12<sup>a</sup></b>	<b>P</b>
<b>Con CMV</b>	<b>76±68</b>	<b>101±86</b>	<b>138±65</b>	<b>80±65</b>	<b>N.S.</b>
<b>Sin CMV</b>	<b>64±93</b>	<b>56±54</b>	<b>64±61</b>	<b>62±57</b>	<b>N.S.</b>

**N.S.    \*0.024    N.S.    N.S.**

**Tabla XIX.- Evolución postrasplante de los valores séricos de ALAT (u/l) en trasplantados hepáticos según que hayan desarrollado o no enfermedad por CMV.**

**ALAT (U/l)**

<b>Meses postrasplante</b>	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>3<sup>a</sup></b>	<b>6<sup>a</sup></b>	<b>12<sup>a</sup></b>	<b>P</b>
<b>Con CMV</b>	<b>133±155</b>	<b>238±283</b>	<b>183±183</b>	<b>120±79</b>	<b>N.S.</b>
<b>Sin CMV</b>	<b>126±113</b>	<b>83±80</b>	<b>97±91</b>	<b>98±109</b>	<b>N.S.</b>

**N.S.    \*0.006    N.S.    N.S.**

**\* p>0.033**

**Tabla XX.- Evolución postrasplante de los valores séricos de GGT (u/l) en trasplantados hepáticos según que hayan desarrollado o no enfermedad por CMV.**

GGT (U/l)

Meses Postraspl.	1 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	P
Con CMV	301±236	395±454	562±1068	376±540	N.S.
Sin CMV	249±243	187±270	178±261	162±193	N.S.
	N.S.	*0.062	N.S.	N.S.	

\* p>0.089

**Tabla XXI.- Evolución postrasplante de los valores séricos de bilirrubina total (mg/dl) en trasplantados hepáticos según que hayan desarrollado o no enfermedad por CMV.**

Bil. T (mg/dl)

Meses Postraspl.	1 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	P
Con CMV	9.2±8.9	2.3±1.1	2.3±2.1	1.6±0.4	
Sin CMV	5.4±6.2	1.9±1.6	1.7±1.1	1.5±0.8	
	*0.021	N.S.	N.S.	N.S.	

\*\* p>0.05

\*\*\* p> 0.001

## **V.- DISCUSSION**



La discusión de este trabajo de Tesis Doctoral se ha dividido en cuatro apartados, siguiendo los mismos epígrafes que los objetivos.

## **1.- INCIDENCIA Y SIGNIFICADO DE LA INFECCION POR VIRUS DEL GRUPO HERPESVIRIDAE EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPATICO**

### **1.1.- Infección por CMV**

La infección por CMV y otros virus del grupo herpesviridae es una importante causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes con trasplante de órgano sólido<sup>11</sup>. De todos los virus de este grupo, el que con mayor frecuencia origina enfermedad severa o muerte, es el CMV<sup>12,13,14,15,16,17</sup>, no sólo por la morbimortalidad que produce "per se", sino porque además, aumenta el riesgo de superinfecciones, bacterianas o fúngicas, y de rechazo del injerto<sup>20,93,150,151</sup>.

La incidencia global de infección por CMV en el presente trabajo fue del 50%, cifra comparable a las publicadas en la literatura, con una incidencia que oscila entre el 59%<sup>19</sup> y el 34.6%<sup>152</sup>. La incidencia de enfermedad por CMV en nuestro estudio fue del 25%, cifra también similar a las publicadas por otros autores<sup>13,16,65</sup>

El sexo de los pacientes con enfermedad por CMV no fue un factor de riesgo en nuestro estudio (15 (60%) varones y 10 (40%) mujeres) y tampoco en los publicados por otros autores<sup>13,19</sup>. No hemos encontrado diferencias significativas en cuanto a la edad del paciente, a diferencia de otros autores. Así Gorenssek y cols.<sup>17</sup> en un análisis de factores de riesgo hallan la edad

superior a 30 años como marginalmente significativa ( $p < 0.06$ ) lo que en opinión de estos autores, refleja la mayor probabilidad de una condición médica más debilitada en pacientes mayores, o de una mayor susceptibilidad a la reactivación, debido a una exposición previa a CMV. En este mismo sentido, Kusne y cols.<sup>65</sup> encuentran, también, que los pacientes mayores de 41 años tienen tendencia a una mayor mortalidad ( $p = 0.06$ ), si bien estos autores se refieren a infección postrasplante en general. En un estudio multifactorial realizado en la Universidad de Minnesota, Dunn y cols.<sup>153</sup> encuentran que la edad superior a 50 años es un factor de riesgo para enfermedad por CMV. Desconocemos la razón de esta diferencia entre nuestro estudio y los anteriormente referidos, en cuanto a la importancia de la edad del paciente como factor de riesgo de desarrollar enfermedad por CMV.

Como en casi todas las series analizadas, en nuestro estudio la indicación más frecuente de trasplante fue la cirrosis de diferente etiología. La enfermedad de base, en nuestra experiencia, no fue un factor de riesgo para la enfermedad por CMV, experiencia que coincide con la de otros autores <sup>13,16,19,65</sup>.

El 66% de las infecciones por CMV en nuestros pacientes aparecieron entre la cuarta y octava semana postrasplante, cifras absolutamente paralelas con las publicadas por otros autores<sup>13,65,152,154</sup>. No obstante, en nuestros pacientes, algunos episodios de infección aparecieron desde las dos semanas y hasta 4 meses postrasplante, coincidiendo con las cifras publicadas por Maddrey y cols.<sup>155</sup> aunque en algunos casos la aparición puede ser mucho más tardía como un caso publicado por Salmela y cols.<sup>16</sup> en el que la infección por CMV hizo su aparición a los 816 días postrasplante.

La localización más frecuente de la enfermedad por CMV fue la hepática, con 12 casos (44%), y en orden decreciente la pulmonar (10 casos, 37%), diseminada (5 casos, 15%) y el tracto gastrointestinal (1 caso, 4%), cifras comparables a las publicadas por Sayage y cols.<sup>13</sup> y D'alcassandro y cols.<sup>154</sup> y sensiblemente inferior a las referidas por Gorenssek y cols.<sup>17</sup>. Hay autores<sup>156</sup> que sostienen que en trasplantados hepáticos, la hepatitis por CMV es un marcador de enfermedad por CMV ampliamente diseminada y otros<sup>157</sup> opinan que todos los pacientes con CMV en otros tejidos lo tienen también en el hígado (aunque sin evidencia clínica o histológica de hepatitis).

El diagnóstico de enfermedad por CMV se realizó en 20 de los 27 pacientes afectos (74%), mientras que en los 7 casos restantes (26%), el diagnóstico se realizó en la autopsia.

El diagnóstico fue hecho por los aspectos clínicos anteriormente citados, y por la evidencia de CMV en el tejido afectado, bien por cultivo directo de dicho tejido, o por evidencia histológica (cuerpos de inclusión).

En nuestros pacientes con enfermedad por CMV se realizó tratamiento con ganciclovir, únicamente. No se utilizaron inmunoglobulinas hiperinmunes anti-CMV.

El índice de curación global obtenido en nuestros pacientes fue del 63% (17/27). Los 10 (37%) pacientes restantes fallecieron. Sin embargo, en los 20 pacientes en los que se realizó el diagnóstico y se estableció tratamiento (Tabla VIII), el índice de curación fue del 85% (17/20)  $p < 0.001$  y fracaso terapéutico en los 3 (15%) restantes. Esto prueba que el grado de eficacia del tratamiento con ganciclovir es muy alto en nuestra experiencia. Nuestros resultados coinciden con los publicados por otros

autores<sup>13,15,16,154</sup>, aunque algunos de ellos y de manera parcial asocian otras drogas al tratamiento, principalmente gammaglobulina hiperinmune<sup>13</sup>. Andrews<sup>158</sup> utilizando sólo ganciclovir tiene una supervivencia del 87% en la enfermedad por CMV. Son varios los autores que preconizan la combinación de ganciclovir con otras drogas, como gammaglobulina hiperinmune<sup>13,154,155,159,160</sup>, si bien todos ellos coinciden en que se necesitan más estudios controlados para verificar la eficacia de esta asociación.

En cuanto al foscarnet (fosfomonofosfato trisódico) ha sido ampliamente empleado en Escandinavia, pero tiene en contra el no haber sido sometido a estudios controlados. En cualquier caso, autores como Sissons<sup>160</sup> sugieren que puede ser una buena alternativa en aquellos pacientes en los que no pueda utilizarse ganciclovir. Estos candidatos serían los pacientes con infección por CMV resistente al ganciclovir, si bien, aunque algún caso se ha dado entre pacientes trasplantados, la mayoría se ha observado en pacientes con SIDA<sup>161</sup>.

Quizá sea importante mencionar una complicación, la afasia nominal no descrita previamente y que apareció en uno de nuestros pacientes. Si bien Sayage y cols.<sup>13</sup> mencionan un caso de depresión que como el resto de los efectos secundarios, regresó una vez suspendido el tratamiento. No hemos observado ningún caso de hipoplasia medular severa como describen Sayage y cols.<sup>13</sup>.

La reversibilidad de los efectos secundarios es una característica común en varios trabajos publicados<sup>13,16</sup>, aunque De Armond<sup>161</sup> en un estudio sobre la seguridad del tratamiento con ganciclovir en pacientes inmunocomprometidos, refiere que en algunos pacientes la neutropenia no regresó tras suspender el tratamiento y alguno de ellos murió de sepsis.

La localización de la enfermedad tiene importancia ya que en las 12 hepatitis por CMV de nuestra serie, se obtuvo éxito terapéutico, mientras

que de las 10 neumonitis, 6 fueron tratadas curándose 4 y falleciendo las otras dos, lo que parece indicar que el ganciclovir se muestra más eficaz en el tratamiento de las hepatitis que en las neumonitis ( $p>0.10$ ) (Tabla VII). No fue significativo sin duda por el pequeño número de casos. Sin embargo cuando dividimos los casos en abdominal sólo, y pulmonar sólo o diseminada, hay una diferencia marginalmente significativa ( $p<0.10$ ).

Tuvimos sólo un caso de afectación del T.G.I. por CMV que curó con tratamiento.

Capítulo aparte merecen las enfermedades por CMV diseminadas. De los 27 casos de enfermedad por CMV, 4 (15%) fueron diseminadas y los cuatro pacientes fallecieron. Esta elevada mortalidad coincide con la publicada por otros autores Shing<sup>19</sup>, Kusne<sup>65</sup> y Gorenssek<sup>17</sup>, que dan cifras del 100%, del 83% y del 100% de mortalidad respectivamente en el grupo de enfermedad diseminada.

La mayoría de los autores coinciden en que estos casos casi siempre son diagnosticados durante la autopsia, lo que también es nuestra experiencia, ya que 3 de los 4 casos fueron diagnosticados durante el estudio necrópsico.

La dificultad diagnóstica premortem quizás estriba, como sostiene Singh<sup>19</sup>, y esta es también nuestra opinión, en que estos pacientes suelen tener además infecciones sistémicas por bacterias y hongos y su muerte es debida probablemente a múltiples factores. Sin embargo, en nuestra experiencia de los 7 casos en los que el diagnóstico se realizó en la autopsia en 6 de ellos la enfermedad por CMV se consideró como la causa fundamental de la muerte.

Hemos analizado la supervivencia actuarial de los pacientes que tienen enfermedad por CMV y se ha comparado con la de los pacientes que no desarrollaron esta complicación y hemos observado que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. La

supervivencia actuarial del grupo con enfermedad por CMV fue de 52%, y la del grupo sin enfermedad por CMV de 60.3%.

Comparando estas cifras con la supervivencia actuarial global de nuestra serie que es del 60%, observamos que no existen grandes diferencias, hecho que coincide con la experiencia del grupo de la Universidad de Baylor<sup>13</sup>. Aunque la infección y enfermedad por CMV generalmente aumentaron la morbimortalidad, solamente la enfermedad pulmonar y/o diseminada causaron un aumento significativo en la mortalidad ( $p < 0.10$ )

## 1.2.- Infección por VHS

La incidencia de infección por VHS en nuestra serie fue del 33% (33-100), cifra que coincide con la experiencia del grupo Pittsburgh<sup>19,65</sup> que es del 35% y 34% respectivamente en dos publicaciones distintas.

En cuanto al tiempo de aparición el 73% de nuestros episodios aparecieron entre la cuarta y octava semana postrasplante aunque algunos aparecieron en la segunda y otros en la trigesimosegunda semana postrasplante. Estas cifras difieren de las publicadas por Kusne<sup>65</sup> quien refiere que en su experiencia el 50% de las infecciones por VHS aparecieron dentro de las 3 primeras semanas postrasplante.

Desde el punto de vista serológico la práctica totalidad (96%) de nuestros pacientes eran seropositivos para VHS, por lo tanto, todos nuestros casos fueron reactivaciones al igual que la experiencia de Pittsburgh<sup>19</sup>.

La localización más frecuente fue la mucocutánea (28/33, 86%), afectando especialmente a la mucosa oral y labial, seguida de la pulmonar (4/33, 12%) y otra localización 1 (3%).

Afortunadamente no hemos tenido ningún caso de hepatitis como el descrito por Shing<sup>19</sup> debido a primoinfección por VHS, documentada

histopatológicamente y que curó con tratamiento con aciclovir. La importancia de este caso radica en que es el primero de hepatitis por infección primaria por VHS que cura con aciclovir en un paciente trasplantado. El paciente posiblemente adquirió la infección por VHS del donante. Aunque esta vía se ha demostrado en trasplante renal, en hígado es rara y no está bien documentada<sup>37,162</sup>.

Tampoco hemos tenido ninguna infección por VHS diseminada como describen Kusne y cols.<sup>65</sup>, en tres casos de su serie, los cuales murieron y el diagnóstico fue establecido en la autopsia. Por lo que hace al tratamiento, fue realizado con aciclovir obteniéndose un índice de curación global del 94%.

Estas cifras coinciden con las publicadas por otros autores<sup>19,65,155,157</sup>. Hay pues un consenso generalizado de que el aciclovir es la droga de elección para este tipo de infección y que alcanza un alto grado de eficacia.

### 1.3.- Infección por el virus varicella-zoster (VVZ)

La incidencia de esta infección es en nuestra experiencia del 5% (5/100), cifra superponible a la publicada por el grupo de Pittsburgh<sup>19</sup> que es del 7%(8/121).

El tratamiento con aciclovir consiguió la curación de todos, excepto uno de nuestros pacientes tratados. No tuvimos ningún caso de varicella como el que describe Singh<sup>19</sup> que fue mortal. Es bien conocido que la varicella tiene un alto nivel de morbimortalidad en pacientes trasplantados<sup>163</sup>.

Como aconseja Shaw<sup>157</sup> hay que estar muy atentos a los pacientes con fiebre de origen incierto con manifestaciones cutáneas de infecciones herpéticas y con signos de afectación de otros órganos particularmente del

sistema nervioso central (SNC). En tales casos la terapia con aciclovir debe ser comenzada de manera precoz.

## 2.- FACTORES DE RIESGO DE DESARROLLO DE ENFERMEDAD POR CMV

Se han identificado muchos factores de riesgo importantes en el desarrollo de enfermedad por CMV, tales como el estado serológico del donante, el uso de ALG y ATG, u otras drogas citotóxicas y la dosis de esteroides. Quizás el mayor interés se ha centrado en el estado serológico pretrasplante tanto de donante como de receptor<sup>140,164,165,166,167,168,169,170,171</sup>. Se ha creído generalmente que los receptores CMV negativos, trasplantados con órganos de donantes CMV positivos tienen el mayor riesgo de sufrir enfermedad por CMV severa por primoinfección<sup>35,164,172,173,174,175,176</sup>. Los receptores CMV positivos, aunque tienen riesgo de sufrir reactivación de su propio virus latente debido a los efectos de la terapia inmunosupresora, se ha creído que es menos probable que desarrollen enfermedad por CMV severa, debido a algún tipo de inmunidad protectora por su enfermedad previa<sup>173,177,178</sup>.

Sin embargo, recientes estudios han demostrado que, incluso los receptores CMV-positivos, pueden desarrollar enfermedad por CMV severa cuando son trasplantados con órganos de donantes CMV-positivos, debido a reinfección (o nueva infección primaria) con el virus del donante, y no a reactivación de la cepa de su propio virus latente<sup>176,179</sup>.

Grandy y cols. mediante técnicas de restricción de endonucleasa de la cubierta viral demostraron en 74 trasplantes renales que la reinfección, ocurría más frecuentemente que la reactivación en estos receptores seropositivos<sup>179</sup>.



La importancia de evitar la exposición de receptores CMV negativos a órganos o productos hemáticos CMV positivos fue evidenciada por Burdelski<sup>180</sup>, quien observó que 5 pacientes que permanecieron negativos tras el trasplante, todos sobrevivieron a largo plazo, mientras que de los que sufrieron primoinfección sólo sobrevivió el 78% ( $p < 0.02$ ).

Chou recientemente ha demostrado que podrían actuar simultáneamente dos cepas de virus, la del donante CMV-positivo y la presuntamente reactivada del virus latente del receptor<sup>33</sup>.

En nuestro estudio no hemos podido identificar la serología CMV-positiva del donante como un factor de riesgo, debido probablemente a que esta serología sólo pudo ser determinada en 34 (30%) donantes globalmente y sólo en 8 (30%) en el grupo de los 27 pacientes que sufrieron enfermedad por CMV. Por tanto, aunque en el análisis estadístico no hubo diferencias significativas, con tan pequeño número de casos determinados esto no es valorable. Por otra parte nuestros receptores eran la inmensa mayoría (88.5%), seropositivos para CMV, mientras que otros autores<sup>13,19</sup> refieren cifras del 40% y 32.5% respectivamente de receptores seronegativos.

Aparte de los factores de riesgo ya analizados, sexo, edad, enfermedad de base y serología del donante, estudiamos también otros como inmunosupresión (esteroides, OKT3, AZA) y transfusión intraoperatoria. Aunque como comentamos en la introducción, las grandes cantidades trasfundidas durante el trasplante hepático se consideran responsables de la transmisión de CMV, coincidiendo con la experiencia de Pittsburgh<sup>19</sup>, de la Universidad de Baylor<sup>13</sup> y de la Clínica Cleveland<sup>17</sup>, tampoco nosotros hemos podido demostrar relación alguna entre el número y tipo de unidades de sangre y hemoderivados utilizados intraoperatoriamente y la aparición de enfermedad por CMV.

Por el contrario, de la misma forma que otros autores<sup>15,19</sup> hemos encontrado que el tratamiento con OKT3 es el factor de riesgo más importante para desarrollar enfermedad por CMV ( $p<0.05$ ). En contraposición, otros autores<sup>13,17</sup> no encuentran una contribución significativa al desarrollo de la misma.

Estamos de acuerdo con Singh y cols.<sup>19</sup> en que debido a que el tratamiento con anticuerpos OKT3 fue usado en episodios de rechazo grave, bien pudiera ser que la más alta incidencia de enfermedad por CMV en estos pacientes sea debida a la combinación de factores tales como rechazo severo, concomitando con infecciones bacterianas y fúngicas que pueden haber aumentado su precario estado de inmunosupresión.

Los corticosteroides y la CyA por sí mismos parecen tener muy poco efecto sobre la infección por CMV, mientras que las drogas citotóxicas tales como la AZA parecen tener la capacidad de reactivar el virus latente, aunque en nuestro estudio este no fue un factor de riesgo.

Varios autores<sup>15,17,19,51</sup> entre otros concluyen que el uso de globulinas y más concretamente la ATG es un factor de riesgo importante para la enfermedad por CMV. Nosotros no tenemos experiencia con este tipo de drogas.

De la misma forma que para la enfermedad por CMV realizamos un estudio de factores de riesgo para la infección por VHS. Los factores sometidos a análisis fueron los mismos: edad, sexo, enfermedad de base, rechazo, inmunosupresión (esteroides OKT3, AZA) y transfusión intraoperatoria.

De todos ellos sólo el uso de OKT3 mostró una significación estadística ( $p<0.05$ ). Existen pocos estudios en este sentido y sólo algunos autores<sup>19</sup> han encontrado no una significación estadística, sino una tendencia a mayor infección por VHS sintomática en aquellos pacientes tratados con OKT3.

Sin embargo, si existen estudios que correlacionan el uso de ALG y AGT con el riesgo de reactivación y enfermedad por VHS sintomática<sup>181,182</sup>. Nosotros no hemos utilizado este tipo de drogas en nuestros pacientes.

### **3.- RELACION TEMPORAL ENTRE INFECCION POR CMV Y RECHAZO DEL INJERTO**

Se ha especulado con la posible asociación de la enfermedad por CMV, con el síndrome de desaparición de conductos biliares (SDCB). En este sentido, la Clinica Mayo<sup>183</sup> publica 5 (10%) casos de SDCB sobre 48 pacientes trasplantados consecutivamente y solo uno de ellos presentó asociación de dicho síndrome con hepatitis por CMV, obviamente no pueden extraerse conclusiones válidas. Dos de nuestros pacientes desarrollaron un SDCB pero en ninguno de ellos se asoció a enfermedad por CMV. Aproximaciones al tema pueden ser las afirmaciones de Vierling<sup>184</sup> que dice que los pacientes con SIDA e infección por CMV también presentan una infección progresiva del epitelio de los conductos biliares y que un factor de riesgo de rechazo del alotrasplante hepático es la infección activa por CMV.

### **4.- SECUELAS CRONICAS EN EL INJERTO POR LA INFECCION POR CMV**

No hemos encontrado estudios que hagan referencia a este tipo de alteraciones. Determinamos las transaminasas (GOT y GPT), gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) y la bilirrubina (BIL) al primero, tercer, sexto y décimo segundo mes postrasplante.

Llama la atención la diferencia estadísticamente significativa a tercer mes con cifras de GOT, GPT, GGT más elevadas en el grupo con

enfermedad por CMV, sin duda en relación con la afectación hepática, aspecto claro en el caso de las hepatitis, y en el resto quizás corroborando la afirmación de Shaw<sup>157</sup> cuando dice que si hay CMV en otros tejidos también hay en el hígado (aunque sin evidencia clínica o histopatológica de hepatitis).

El resto de las diferencias significativas dentro de cada grupo son así mismo de difícil interpretación.

Sin embargo, a partir del sexto mes, y durante el resto del periodo de estudio postrasplante no existió diferencia significativa en ninguno de los parámetros estudiados de función del injerto, lo que sugiere que la enfermedad por CMV no deja secuelas crónicas en el injerto.

Aparentemente la infección por CMV en trasplantados hepáticos comparte muchas características con las de otros trasplantados de órganos sólidos. Estas incluyen la transmisión por el órgano donante, similares manifestaciones clínicas y de tiempo, así como la asociación de la enfermedad sintomática con primoinfección y posiblemente con el uso de globulinas antilinfocíticas<sup>27,29,57,185</sup>. Las probables diferencias son una potencial mayor gravedad de la lesión hepática y un mayor porcentaje de enfermedad sintomática frente a la asintomática.

## **VI.- CONCLUSIONES**

**De los resultados del presente trabajo podemos extraer las siguientes conclusiones:**

- 1.- La infección por virus del grupo herpesviridae es una causa frecuente de morbimortalidad en los pacientes con trasplante hepático, ya que el 49% de ellos tiene al menos un episodio de infección sintomática por CMV, VHS ó VVZ y los herpesviridae son los responsables del 10% de los fallecimientos.
- 2.- Dentro de las infecciones víricas analizadas, la más frecuente es la causada por VHS (33% de los pacientes) seguida del CMV (25% de los pacientes) y del VVZ (5% de los pacientes).
- 3.- La infección por VHS afecta fundamentalmente a piel y mucosas y es de curso clínico benigno; respondiendo el 94% de los episodios al aciclovir.
- 4.- La enfermedad por CMV afecta fundamentalmente a hígado y pulmón. La afectación hepática es de fácil diagnóstico y curso benigno respondiendo al tratamiento con ganciclovir. Por el contrario la afectación pulmonar con frecuencia sólo se diagnostica postmortem, y tiene un pronóstico malo a pesar del tratamiento con ganciclovir.
- 5.- El ganciclovir es una medicación segura y eficaz para el tratamiento de la enfermedad por CMV en los pacientes con trasplante hepático.
- 6.- La infección por VVZ es la menos frecuente de las tres. Su curso es benigno y responde al tratamiento con aciclovir.
- 7.- En nuestra experiencia el tratamiento con anticuerpos monoclonales antilinfocitos CD3+ es el factor de riesgo más importante de desarrollo de infección por CMV y VHS.
- 8.- El escaso número de pacientes en los que se disponía de información sobre el estado serológico CMV y VHS del donante no nos permite obtener conclusiones sobre este posible factor de riesgo.

- 9.- No existe relación entre la infección por CMV y el rechazo celular agudo del injerto.
- 10.- El pequeño número de injertos con rechazo crónico en nuestra serie no nos permite obtener conclusiones sobre la relación entre infección por CMV y rechazo crónico.
- 11.- La primoinfección es poco frecuente en adultos con trasplante hepático, probablemente debido a la elevada prevalencia de CMV en nuestra población (88.5%) de los receptores y (65 %) de los donantes.
- 12.- La infección por CMV no deja secuelas crónicas en el injerto.

## **VII.- BIBLIOGRAFIA**



- 1.- Moore F.D., Wheeler H.B., Demissiones H.V. et al.: Experimental whole-organ transplantation of the liver and of the spleen. *Ann Surg.* 1960, 152: 374-387.
- 2.- Starzl T.E., Kaupp H.A., Brock D.R., Lazarus R.E., Johnson R.V. Reconstructive problems in canine liver homotransplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow. *Surg. Gynecol Obstet* 1960, 11: 733-743.
- 3.- Starzl T.E., Marchioro T.L., von Kaulla K.N., Herman G., Britain R.S., Waddell W.R.: Homotransplantation of the liver in human. *Surg. Gynecol Obstet* 1963, 117: 659-676.
- 4.- Starzl T.E., Groth C.G., Brettschneider L., et al.: Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Ann Surg* 1968: 392-415.
- 5.- Anónimo. Liver Transplantation: Consensus conference. *JAMA* 1983, 250: 2961-2964.
- 6.- Detre K.M., Belle S.H., Beringer K.C., Murphy J.B., Vaughn W.K., PITT-UNOS Liver transplant registry clinical transplant 1990. P. Terasaki, ed. UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, California, pp. 9-18.
- 7.- Bismuth H.: European Liver Transplant Registry. Report 30/june, 1991.
- 8.- R. Matesanz. Evolución de la actividad extractora y trasplantadora de órganos sólidos en España (1990). *Nefrología* 1991, 11 (suppl 1): 150-173.
- 9.- Cuervas-Mons V., Martínez A.J., Dekker A. et al.: Adult liver transplantation: an analysis of the early causes of death in 40 consecutive cases. *Hepatology* 1986, 6: 495-501.

- 10.- Rubin R.H.: Infections disease problems. En: Current Topics in Gastroenterology. Zakim, D (Ed.). Elsevier, New York 1988; 279-308.
- 11.- Ho M.: Infection and organ transplantation. In: Gelman S., ed. Anesthesia and organ transplantation. Philadelphia: W.B. Saunders, 1987: 49-60.
- 12.- Ho M.: Human cytomegalovirus infections in immunosupressed patients. In: Greenbough W.G., ed. Cytomegalovirus, biology and infection, current topics in infections disease. Chapter 11. New York: Plenum, 1982: 171-204.
- 13.- Sayague L.H., Gonwa T.A., Goldstein R.M., Husberg B.S., Klintmalm. Cytomegalovirus infection in orthotopic liver transplantation. Transplat Int 1989; 2: 96-101.
- 14.- Reed E.C.: Treatment of cytomegalovirus pneumonia in transplant patients. Transplantation Proc 1991; 23 (2): 8-12.
- 15.- Petersen E.A.: Extrapulmonary cytomegalovirus disease in transplant patients. Transplantation Proc 1991; 23 (2): 13-16.
- 16.- Salmela K., Hockerstedt K., Lantenschlager B., Eklund B., Isomiemi H., Holmberg C., Ahonen J.: Ganciclovir in the treatment of severe cytomegalovirus disease in liver transplant patients. Transpl Proc 1990; 22: 283-240.
- 17.- Gorenssek M.J., Carey W.D., Vogt D., Goormastic M.: A multivariate analysis of risk factors for cytomegalovirus infection in liver-transplant recipients. Gastroenterology 1990; 98: 1326-1332.
- 18.- Kusne S., Dummer J.S., Singh N., Iwatsuki S., Makowka L., Esquivel C., Tzakis A.G., Starzl T.E., Ho M.: Infections after liver transplantation. An analysis of 101 consecutive cases. Medicine (Baltimore) 1988; 67: 132-143.

- 19.- Singh N., Dummer J.S., Kusne S., Breinig M.K., Armstrong J.A., Makowka L., Starzl T.E., Ho M.: Infections with cytomegalovirus and other herpesviruses in 121 liver transplant recipients: transmission by donated organ and the effect of OKT3 antibodies. *J Infect dis* 1988; 158: 124-131.
- 20.- Rand K.H., Pollard R.B., Merigan T.C.: Increased pulmonary superinfections in cardiac-transplant patients undergoing primary cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 1978; 298: 951-953.
- 21.- Chatterjee S.N., Fiala M., Weiner J., Stewar J.A., Stacey B., Warner N.: Primary cytomegalovirus and opportunistic infections. Incidence in renal transplant recipients. *JAMA* 1978; 240: 2446-2449.
- 22.- Paya C.V., Hermans P.E., Wiesner R.H., Ludwig J., Smith T.F., Rakela J., Krom R.A.F.: Cytomegalovirus hepatitis in liver transplantation. *J Infect Dis* 1989; 160: 752-758.
- 23.- Rubin R.H.: Infection in the renal and liver transplant patients. In: Rubin R.H., Young L.S., eds. *Clinical approach to infection in the compromised host*. 2nd ed. New York: Plenum Publishing 1988: 557-621.
- 24.- Gentry L.O., Zeluff B.: Infection in the cardiac transplant patients. In: Rubin R.H., Young L.S., eds. *Clinical approach to infection in the compromised host*. 2nd ed. New York: Plenum Publishing, 1988: 623-648.
- 25.- Betts R.F., Freeman R.B., Douglas R.G. Jr., Talley T.E., Rundell B.: Transmission of cytomegalovirus infection with renal allograft. *Kidney Int* 1975; 8: 385-392.
- 26.- Rubin R.H., Tolkoff-Rubin N.E.: The problem of cytomegalovirus infection in transplantation. In: Morris P.J., Tilney N.L., eds. *Progress in trasplantation*. Vol 1. Edinburgh: Churchill Livingstone 1984: 89-114.

- 27.- Suwansirikul S., Rao N., Dowling J.N., Ho M.: Primary and secondary cytomegalovirus infection: clinical manifestations after renal transplantation. *Arch Intern Med* 1977; 137: 1026-1029.
- 28.- Fiala M., Payne J.E., Berne T.V., Moore T.C., Henle W., Montgomerie J.Z., Chatterjee S.N., Guze L.B.: Epidemiology of cytomegalovirus infection transplantation and immunosuppression. *J Infect Dis* 1975; 132: 421-423.
- 29.- Rubin R.H., Tolkoff-Rubin N.E., Oliver D., Rota T.R., Hamilton J., Betts R.F., Pass R.F., Hillis W., Szmuness W., Farrell M.L., Hirsch M.S.: Multicenter seroepidemiologic study of the impact of cytomegalovirus infection on renal transplantation. *Transplantation* 1985; 40: 243-249.
- 30.- Chou S.W., Norman D.J.: The influence of donor factor other than serologic status on transmission of cytomegalovirus to transplant recipients. *Transplantation* 1988; 46: 89-93.
- 31.- Fryd D.S., Peterson P.K., Ferguson R.M., Simmons R.L., Balfour H.H. Jr., Najarian J.S.: Cytomegalovirus as a risk factor in renal transplantation. *Transplantation* 1980; 30: 436-439.
- 32.- Smiley M.L., Wlodaver C.G., Grossman R.A., Barker C.F., Perloff L.J., Tustin N.B., Starr S.E., Plotkin S.A., Friedman H.M.: The role of pretransplant immunity in protection from cytomegalovirus disease following renal transplantation. *Transplantation* 1985; 40: 157-161.
- 33.- Chou S.: Acquisition of donor strains of cytomegalovirus by renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 1986; 314: 1418-1423.
- 34.- Grundy J.E., Super M., Lui S., Sweny P., Griffiths P.D.: The source of cytomegalovirus infection in seropositive renal allograft recipients is frequently the donor kidney. *Transplant Proc* 1987; 19: 2126-2128.

- 35.- Ho M., Suwansirikul S., Dowling J.N., Youngblood L.A., Armstrong J.A.: The transplanted kidney as a source of cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 1975; 293: 1109-1112.
- 36.- Ho M., Dowling J.N., Armstrong J.A., Suwansirikul S., Youngblood L.A., Saslow A. Factors contributing to the risk of cytomegalovirus infection in patients receiving renal transplants. *Yale J Biol Med* 1976; 49: 17-26.
- 37.- Dummer J.S., Armstrong J., Somer J., Kusne B.J., Rosenthal J.T., Ho M.: Transmission of infection with herpes simplex virus by renal transplantation. *J. Infect Dis* 1987; 155: 202.
- 38.- Ho M., Dummer J.S.: In Mandell G.J., Douglas R.G., Bennett J.E. (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 3rd ed. New York, Churchill Livingstone, 1990, pp 2284-2291.
- 39.- Wilson E.J., Medearis D.N., Barrett L.V., Bhan A., Rubin R.H.: The effects of donor pretreatment on the transmission of murine cytomegalovirus with cardiac transplants and explants. *Transplantation* 1986; 41: 781-782.
- 40.- Schrier R.D., Nelson J.A., Oldstone M.B.A.: Detection of human cytomegalovirus in peripheral blood lymphocytes in a natural infection. *Science* 1985; 230: 1048-1051.
- 41.- Saltzman R.L., Quirk M.R., Jordan M.C.: Disseminated cytomegalovirus infection: molecular analysis of virus and leukocyte interactions in viremia. *J Clin Invest* 1988; 81: 75-81.
- 42.- Masih A.S., Linder J., Shaw B.J. Jr., Wood R.P., Donovan J.P., White R., Markin R.S.: Rapid identification of cytomegalovirus in liver allograft biopsies by in situ hybridization. *Am J Surg Pathol* 1988; 12: 362-367.
- 43.- Sacks S.L., Freeman H.J.: Cytomegalovirus hepatitis: evidence for direct hepatic viral infection using monoclonal antibodies. *Gastroenterology* 1984; 86: 346-350.

- 44.- Payton D., Thorner P., Eddy A., Yeger H., Bauman R.: Demonstration by light microscopy of cytomegalovirus on a renal biopsy of a renal allograft recipient: confirmation by immunohistochemistry and in situ hybridization. *Nephron* 1987; 47: 205-208.
- 45.- Ulrich W., Schlederer M.P., Buxbaum P., Stummvoll H., Rockenschaub S., Kovarik J., Krisch I.: The histopathologic identification of CMV infected cells in biopsies of human renal allografts: an evaluation of 100 transplant biopsies by in situ hybridization. *Pathol Res Pract* 1986; 181: 739-745.
- 46.- Gonwa T.A., Capehart J.E., Pilcher J.W., Alivizatos P.A.: Cytomegalovirus myocarditis as a cause of cardiac dysfunction in a heart transplant recipient. *Transplantation* 1989; 47: 197-199.
- 47.- Rubin R.H., Pasternack M.S., Medcaris D.N., Lynch P., Smith S., Auchincloss H.: The effects of different immunosuppressive regimens on the course of murine cytomegalovirus infection. *Transplantation* 1990; Vol. 52 pp. 351-354.
- 48.- Dowling J.N., Saslow A.R., Armstrong J.A., Ho M.: Cytomegalovirus infection in patients receiving immunosuppressive therapy for rheumatologic disorders. *J Infect Dis* 1976; 133: 399-408.
- 49.- Weir M.R., Irwin B.C., Maters A.W., Genemans G., Shen S.Y., Charache P., Williams G.M.: Incidence of cytomegalovirus disease in cyclosporine-treated renal transplant recipients based on donor/recipients pretransplant immunity. *Transplantation* 1987; 43: 187-193.

- 50.- Weir M.R., Henry M.L., Blackmore M., Smith J., First M.R., Irwin B., Shen S., Genemans G., Alexander J.W., Corry R.J., Nghiem D.D., Ferguson R.M., Kittur D., Shield C.F. III, Sommer B.G., Williams M.G.: Incidence and morbidity of cytomegalovirus disease associated with a seronegative recipient receiving seropositive donor-specific transfusion and living related donor transplantation: a multicenter evaluation. *Transplantation* 1988; 45: 111-116.
- 51.- Tolkoff-Rubin N.E., Rubin R.H.: The impact of cyclosporine therapy on the occurrence of infection in the renal transplant recipient. *Transplant Proc.* 1986; 18 (Suppl): 168-173.
- 52.- Cheeseman S.H., Rubin R.H., Stewart J.A., Tolkoff-Rubin N.E., Cosimi A.B., Cantell K., Gilbert J., Winkle S., Herrin J.T., Black P.H., Russell P.S., Hirsch M.S.: Controlled clinical trial of prophylactic human-leukocyte interferon in renal transplantation: effects on cytomegalovirus and herpes simplex virus infection. *N Engl J Med.* 1979; 300: 1345-1349.
- 53.- Pass R.F., Reynolds D.W., Whelchel J.D., Diethelm A.G., Alford C.A.: Impaired lymphocyte transformation response to cytomegalovirus and phytohemagglutinin in recipients of renal transplants: association with antithymocyte globulin. *J Infect Dis* 1981; 143: 259-265.
- 54.- Marker S.C., Howard R.J., Simmons R.L., Kalis J.M., Connelly D.P., Najarian J.S., Balfour H.H. Jr.: Cytomegalovirus infection: a quantitative prospective study of three hundred twenty consecutive renal transplants. *Surgery* 1981; 89: 660-671.
- 55.- Cheeseman S.H., Stewart J.A., Winkle S., Cosimi A.B., Tolkoff-Rubin N.E., Russell P.S., Baker G.P., Herrin J.T., Rubin R.H.: Cytomegalovirus excretion 2-14 years after renal transplantation. *Transplant Proc* 1979; 11: 71-74.

- 56.- Rubin R.H., Cosimi A.B., Tolckoff-Rubin N.E., Russell P.S., Hirsch M.S.: Infectious disease syndromes attributable to cytomegalovirus and their significance among renal transplant patients. *Transplantation* 1977; 24: 458-464.
- 57.- Peterson P.K., Balfour H.H. Jr., Marker S.C., Fryd D.S., Howard R.J., Simmons R.L.: Cytomegalovirus disease in renal allograft recipients: a prospective study of the clinical features, risk factors, and impact on renal transplantation. *Medicine (Baltimore)* 1980; 59: 283-300.
- 58.- Peterson P.K., Balfour H.H. Jr., Fryd D.S., Ferguson R.M., Simmons R.L.: Reversal in renal transplant recipients: causes, prognostic significance and changing patterns at the University of Minnesota Hospital. *Am J Med* 1981; 71: 345-351.
- 59.- Simmons R.L., López C., Balfour H. Jr., Kalis J., Rattazzi L.C., Najarian J.S.: Cytomegalovirus: clinical virological correlations in renal transplant recipients. *Ann Surg* 1974; 180: 623-634.
- 60.- Simmons R.L., Matas A.J., Rattazzi L.C., Balfour H.H. Jr., Howard R.J., Najarian J.S.: Clinical characteristics of the lethal cytomegalovirus infection following renal transplantation. *Surgery* 1977; 82: 537-546.
- 61.- Rubin R.H., Cosimi A.B., Hirsch M.S., Herrin J.T., Russell P.S., Tolckoff-Rubin N.E.: Effects of antithymocyte globulin on cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Transplantation* 1981; 31: 143-145.
- 62.- Ravin C.E., Smith G.W., Ahern M.J., McLoud T., Putman C., Milchgrub S.: Cytomegaloviral infection presenting as a solitary pulmonary nodule. *Chest* 1977; 71: 220-222.
- 63.- Luby J.P., Burnett W., Hull A.R., Ware A.J., Shorey J.W., Peters P.C.: Relationship between cytomegalovirus and hepatic function abnormalities in the period after renal transplant. *J Infect Dis* 1974; 129: 511-518.



- 64.- Jeffery J.R., Guttman R.D., Becklake M.R., Beaudoin J.G., Morehouse D.D.: Recovery from severe cytomegalovirus pneumonia in a renal transplant patient. *Am Rev Respir Dis* 1974; 109: 129-133.
- 65.- Bronshter O., Makowka L., Jaffe R., Demetris A.J., Breining M.K., Ho M., Esquivel C.O., Gordon R.D., Iwatsuki S., Tzakis A., Marsh J.W. Jr., Mazzaferro V., Van Thiel D., Starzl T.E. Occurrence of cytomegalovirus hepatitis in liver transplant patients. *J Med Virol* 1988; 24: 423-434.
- 66.- Snover D.C., Horowitz C.A.: Liver disease in cytomegalovirus mononucleosis: a light microscopical and immunoperoxidase study of six cases. *Hepatology* 1984; 4: 408-412.
- 67.- Sutherland D.E.R., Chan F.Y., Foucar E., Simmons R.L., Howard R.J., Najarian J.S.: The bleeding cecal ulcer in transplant patients. *Surgery* 1980; 86: 386-398.
- 68.- Minars N., Silverman J.F., Escobar M.R., Martínez A.J.: Fatal cytomegalic inclusion disease: associated skin manifestations in a renal transplant patient. *Arch Dermatol* 1977; 113: 1569-1571.
- 69.- Patel N.P., Corry R.J.: Cytomegalovirus as a cause of cecal ulcer with massive hemorrhage in a renal transplant recipient. *Am Surg* 1980; 46: 260-262.
- 70.- Franzin G., Muolo A., Griminelli T.: Cytomegalovirus inclusions in the gastroduodenal mucosa of patients after renal transplantation. *Gut* 1981; 22: 698-701.
- 71.- van Son W.J., van der Jagt E.J., van der Woude F.J., Slooff M.J., Meijer S., The TH, Tegzess A.M., van der Slikke L.B., Donker A.J.: Pneumatosis intestinalis in patients after cadaveric kidney transplantation: possible relationship with an active cytomegalovirus infection. *Transplantation* 1984; 38: 506-510.

- 72.- Dorfman L.J.: Cytomegalovirus encephalitis in adults. *Neurology* 1973; 23: 136-144.
- 73.- Spitzer P.G., Tarsy D., Eliopoulos G.M.: Acute transverse myelitis during disseminated cytomegalovirus infection in a renal transplant recipient. *Transplantation* 1987; 44: 151-153.
- 74.- Pollard R.B., Rand K.H., Arvin A.M., Merigan T.C. Cell-mediated immunity of cytomegalovirus infection in normal subjects and cardiac transplant patients. *J Infect Dis* 1978 137: 541-549.
- 75.- Linnemann C.C. Jr., Kauffman C.A., First M.R., Schiff G.M., Phair J.P. Cellular immune response to cytomegalovirus after renal transplantation. *Infect Immun* 1978; 22 (1): 176-180.
- 76.- Rytel M.W., Aguilar-Torres F.G., Balay J., Heim L.R. Assessment of the status of cell-mediated immunity in cytomegalovirus-infected renal allograft recipients. *Cell Immunol* 1978, 37 (1) : 31-40.
- 77.- Carney W.P., Rubin R.H., Hoffman R.A., Hansen W.P., Healey K., Hirsch M.S.: Analysis of T lymphocyte subsets in cytomegalovirus mononucleosis. *J Immunol* 1981; 126: 2114-2116.
- 78.- Dummer J.S., Ho M., Rabin B.P., Griffith B.P., Hardesty R.L., Bahnson H.T.: The effect of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection on T lymphocyte subsets in cardiac transplant patients on cyclosporine. *Transplantation* 1984; 38: 433-435.
- 79.- Grattan M.T., Moreno-Cabral C.E., Starnes V.A., Oyer P.E., Stinson E.B., Shmway N.E.: Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. *JAMA* 1989; 261: 3561-3566.
- 80.- Rubin R.H., Wolfson J.S., Cosimi A.B., Tolkoff-Rubin N.E.: Infection in the renal transplant recipient. *Am J Med* 1981; 70: 405-411.

- 81.- Wu B.C., Dowling J.N., Armstrong J.A., Ho M. Enhancement of mouse cytomegalovirus infection during host-versus-graft reaction. *Science* 1975; 190 (4209): 56-58.
- 82.- Dowling J.N., Wu B.C., Armstrong J.A., Ho M. Enhancement of murine cytomegalovirus infection during after-vs.-host reaction. *J. Infect Dis* 1977; 135 (6) : 990-994.
- 83.- Grundy J.E., Shanley J.D., Shearer G.M. Augmentation of graft-versus-host reaction by cytomegalovirus infection resulting in interstitial pneumonitis. *Transplantation* 1985; 39 (5): 548-553.
- 84.- Pass R.F., Long W.K., Whitley R.J., Soong S.J., Diethelm A.G., Reynolds D.W., Alford CA. Jr. Productive infection with cytomegalovirus and herpes simplex virus in renal transplant recipients: role of source of kidney. *J Infect Dis* 1978; 137(5): 556-563.
- 85.- Ho M. Virus infections after transplantation in man. Brief review. *Arch Virol.* 1977; 55(1-2): 1-24.
- 86.- Simmons R.L., Weil R III, Tallent M.B., Kjellstrand C.M., Najarian J.S.: Do mild infections trigger the rejection of renal allografts? *Transplant Proc* 1970; 2: 419-423.
- 87.- López C., Simmons R.L., Maurer S.M., Najarian J.S., Good R.A., Gentry S. Association of renal allograft rejection with virus infections. *Am J Med* 1974; 56(3): 280-289.
- 88.- Opelz G., Sengar D.P.S., Mickey M.R., Terasaki P.I. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transplant Proc* 1973; 5(1): 253-259.
- 89.- Andrus C.H., Betts R.F., May A.G., Freeman R.B. Cytomegalovirus infection blocks the beneficial effect of pretransplant blood transfusion on renal allograft survival. *Transplantation* 1979; 28(6): 451-456.

- 90.- Flechner S.M., Novick A.C., Steinmuller D., Braun W., Buzsta C. Determinants of allograft survival in 100 consecutive cadaver kidney transplants. *J Urol* 1982; 127(6): 1084-1086.
- 91.- Ho M.: Cytomegalovirus infection and indirect sequelae in the immunocompromised trnasplant patient. *Transplant Procc* 1991; 23: 2-7.
- 92.- Cameron J., Rigby R.J., van Deth A.G., Petrie J.J.B.: Severe tubulo-interstitial disease in a renal allograft due to cytomegalovirus infection. *Clin Nephrol* 1982; 18: 321-325.
- 93.- Richardson W.P., Colvin R.B., Cheeseman S.H., Tolckoff-Rubin N.E., Herrin J.T., Cosimi A.B., Collins A.B., Hirsch M.S., McCluskey R.T., Russell P.S., Rubin R.H.: Glomerulopathy associated with cytomegalovirus viremia in renal allografts. *N Engl J Med* 1981; 305: 57-63.
- 94.- Herrera G.A., Alexander R.W., Cooley C.F., Luke R.G., Kelly D.R., Curtis J.J., Gockerman J.P.: Cytomegalovirus glomerulopathy: a controversial lesion. *Kidney Int* 1986; 29: 725-733.
- 95.- Rubin R.H., Colvin R.B.: Cytomegalovirus infection in renal transplantation; clinical importance and control. In: Williams G.M., Burdick J.F., Solez K., eds. *Kidney transplant rejection: diagnosis and treatment*. New York: Dekker, 1986: 283-304.
- 96.- Pardo V., Aldana M., Colton R.M., Fischl M.A., Jaffe D., Moskowitz L., Hensley G.T., Bourgoignie J.J.: Glomerular lesions in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1984; 101: 429-434.
- 97.- Tuazon T.V., Schneeberger E.E., Bhan A.K., McCluskey R.T., Cosimi A.B., Schooley R.T., Rubin R.H., Colvin R.B.: Mononuclear cells in acute allograft glomerulopathy. *Am J Pathol* 1987; 129: 119-132.

- 98.- Boyce N.W., Hayes K., Gee D., Holdsworth S.R., Thomson N.M., Scott D., Atkins R.C.: Cytomegalovirus infection complicating transplantation and its relationship to acute transplant glomerulopathy. *Transplantation* 1988; 45: 706-709.
- 99.- Skoskiewicz M.J., Colvin R.B., Schneeberger E.E., Russell P.S.: Widespread and selective induction of major histocompatibility complex-determined antigens in vivo by  $\gamma$  interferon. *J Exp Med* 1985; 162: 1645-1664.
- 100.- Pober J.S., Collins T., Gimbrone M.A. Jr., Cotran R.S., Gitlin J.D., Fiers W., Clayberger C., Krensky A.M., Burakoff S.J., Reiss C.S.: Lymphocytes recognize human vascular endothelial and dermal fibroblast Ia antigens induced by recombinant immune interferon. *Nature* 1983; 305: 726-729.
- 101.- Pober J.S., Gimbrone M.A. Jr., Cotran R.S., Reiss C.S., Burakoff S.J., Fiers W., Ault K.A.: Ia expression by vascular endothelium inducible by activated T cells and by human  $\gamma$  interferon. *J Exp Med* 1983; 157: 1339-1353.
- 102.- Grundy J.E., Ayles H.M., McKeating J.A., Butcher R.G., Griffiths P.D., Poulter L.W.: Enhancement of class I HLA antigen expression by cytomegalovirus: role in amplification of virus infection. *J Med Virol* 1988; 25: 483-495.
- 103.- Grundy J.E., Shearer G.M.: The effect of cytomegalovirus infection on the host response to foreign and haptenmodified self histocompatibility antigens. *Transplantation* 1984; 37: 484-490.
- 104.- von Willebrand E., Pettersson E., Ahonen J., Hayry P.: CMV infection, class II antigen expression, and human kidney allograft rejection. *Transplantation* 1986; 42: 364-367.

- 105.- Fujinami R.S., Nelson J.A., Walker L., Oldstone M.B.A.: Sequence homology and immunologic cross-reactivity of human cytomegalovirus with HLA-DR  $\beta$  chain: a means for graft rejection and immunosuppression. *J Virol* 1988; 62: 100-105.
- 106.- Beck S., Barrell B.G.: Human cytomegalovirus encodes a glycoprotein homologous to MHC class-I antigens. *Nature* 1988; 331: 269-272.
- 107.- Beckwith D.G., Halstead D.C., Alpaugh K., Schweder A., Blount-Fronefield D.A., Toth K.: Comparison of a latex agglutination test with five other methods for determining the presence of antibody against cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 328-331.
- 108.- Ackermann J.R., LeFor W.M., Weinstein S., Kahana L., Shires D.L., Tardif G., Baxter J. Four-year experience with exclusive use of cytomegalovirus antibody (CMV-Ab) negative donors for CMV-Ab-negative kidney recipients. *Transplant. Proc* 1988; 20(Suppl 1): 469-471.
- 109.- Chou S.: Cytomegalovirus infection and reinfection transmitted by heart transplantation. *J. Infect Dis* 1987; 155: 104-106.
- 110.- Preiksaitis J.K., Brown L., McKenzie M.: Transfusion-acquired cytomegalovirus infection in neonates. A prospective study. *Transfusion* 1988; 28: 205-209.
- 111.- Glazer J.P., Friedman H.M., Grossman R.A., Starr S.E., Barker C.F., Perloff L.J., Huang E.S., Plotkin S.A.: Live cytomegalovirus vaccination of renal transplant candidates: a preliminary trial. *Ann Inter Med* 1979; 91: 676-683.
- 112.- Plotkin S.A., Smiley M.L., Friedman H.M., Starr S.E., Fleisher G.R., Wlodaver C., Dafoe D.C., Friedman A.D., Grossman R.A., Barker C.F.: Towne-vaccine-induced prevention of cytomegalovirus disease after renal transplants. *Lancet* 1984; 1: 528-530.

- 113.- Marker S.C., Simmons R.L., Balfour H.H. Jr.: Cytomegalovirus vaccine in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 1981; 13: 117-119.
- 114.- Hirsch M.S., Schooley R.T., Cosimi A.B., Russell R.P.S., Delmonico F.L., Tolkoﬀ-Rubin N.E., Herrin J.T., Cantell K., Farrell M.L., Rota T.R., Rubin R.H.: Effects of interferon-alpha on cytomegalovirus reactivation syndromes in renal-transplant recipients. *N Eng J Med* 1983; 308: 1489-1493.
- 115.- Meyers J.D., Flournoy N., Sanders J.E., McGuffin R.W., Newton B.A., Fisher L.D., Lum L.G., Appelbaum F.R., Doney K., Sullivan K.M., Storb R., Buckner C.D., Thomas E.D.: Prophylactic use of human leucocyte interferon after allogeneic marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1987; 107: 809-816.
- 116.- Kramer P., Ten Kate F.W.J., Bijnen A.B., Jeckel J., Weimar W.: Recombinant leucocyte interferon A induces steroid-resistant acute vascular rejection episodes in renal transplant recipients. *Lancet* 1984; 1: 989-990.
- 117.- Winston D.J., Pollard R.B., Ho W.G., Gallagher J.G., Rasmussen L.E., Huang S.N.-Y., Lin C.-H., Gossett T.G., Merigan T.C., Gale R.P.: Cytomegalovirus immune plasma in bone marrow transplant recipients. *Ann Intern Med* 1982; 97: 11-18.
- 118.- O'Reilly R.J., Reich L., Gold J., Kirkpatrick D., Dinsmore R., Kapoor N., Condie R.: A randomized trial of intravenous hyperimmune globulin for the prevention of cytomegalovirus (CMV) infections following marrow transplantation: preliminary results. *Transplant Proc* 1983; 15: 1405-1411.
- 119.- Meyers J.D., Leszczynski J., Zaia J.A., Flournoy N., Newton B., Snyderman D.R., Wright G.G., Levin M.J., Thomas E.D.: Prevention of cytomegalovirus infection by cytomegalovirus immune globulin after marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1983; 98: 442-446.

- 120.- Bowden R.A., Sayers M., Flournoy N., Newton B., Banaji M., Thomas E.D., Meyers J.D.: Cytomegalovirus immune globulin and seronegative blood products to prevent primary cytomegalovirus infection after marrow transplantation. *N Engl J Med* 1986; 314: 1006-1010.
- 121.- Winston D.J., Ho W.G., Lin C-H., Bartoni K., Budinger M.D., Gale R.P., Champlin R.E.: Intravenous immune globulin for prevention of cytomegalovirus infection and interstitial pneumonia after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1987; 106: 12-18.
- 122.- Snyderman D.R., Werner B.G., Heinze-Lacey B., Berardi V.P., Tilney N.L., Kirkman R.L., Milford E.L., Cho S.I., Bush H.L. Jr., Levey A.S., Strom T.B., Carpenter C.B., Levey R.H., Harmon W.E., Zimmerman C.E. II, Shapiro M.E., Steinman T., LoGerfo F., Idelson B., Schröter G.P.J., Levin M.J., McIver J., Leszczynski J., Grady G.F.: Use of cytomegalovirus immune globulin to prevent cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. *N Engl J Med* 1987; 317: 1049-1054.
- 123.- Meyers J.D., Reed E.C., Shepp D.H., Thornquist M., Dandliker P.S., Vicary C.A., Flournoy N., Kirk L.E., Kersey J.H., Thomas E.D., Balfour H.H. Jr.: Acyclovir for prevention of cytomegalovirus infection disease after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1988; 318: 70-75.
- 124.- Balfour H.H. Jr., Chace B.A., Stapleton J.T., Simmons R.L., Fryd D.S.: A randomized, placebo-controlled trial of oral acyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease in recipients of renal allografts. *N Engl J. Med* 1989; 320: 1381-1387.
- 125.- Shepp D.H., Dandliker P.S., de Miranda P., Burnette T.E., Cederberg D.M., Kirk L.E., Meyers J.D.: Activity of 9-(2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxymethyl) guanine in the treatment of cytomegalovirus pneumonia. *Ann Intern Med* 1985; 103: 368-373.



- 126.- Hecht D.W., Snyderman D.R., Crumpacker C.S., Werner B.G., Heinze-Lacey B.: Boston Renal Transplant CMV study group. *J Infect Dis* 1988; 157: 187-190.
- 127.- Mar E.C., Cheng Y-C., Huang E-S.: Effect of 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine on human cytomegalovirus replication in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 24: 518-521.
- 128.- Cole N.L. Balfour H.H. Jr.: In vitro susceptibility of cytomegalovirus isolates from immunocompromised patients to acyclovir and ganciclovir. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1987; 6: 255-261.
- 129.- Walmsley S.L., Chew E., Read S.E., Vellend H., Salit I., Rachlis A., Fanning M.M.: Treatment of cytomegalovirus retinitis with trisodium phosphonoformate hexahydrate (foscarnet). *J Infect Dis* 1988; 157: 569-572.
- 130.- Collaborative DHPG Treatment Study Group.: Treatment of serious cytomegalovirus infection with 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine in patients with AIDS and other immunodeficiencies. *N Engl J Med* 1986; 314: 801-805.
- 131.- Erice A., Jordan M.C., Chace B.A., Fletcher C., Chinnock B.J., Balfour H.H. Jr.: Ganciclovir treatment of cytomegalovirus disease in transplant recipients and other immunocompromised hosts. *JAMA* 1987; 257: 3082-3087.
- 132.- Singer D.R.J., Fallon T.J., Schulenburg W.E., Williams G., Cohen J: Cytomegalovirus retinitis in a renal transplant patient with recurrent opportunistic infections: treatment with foscarnet and CMV hyperimmune globulin. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1985; 22: 645:650.
- 133.- Keay S., Bisset J., Merigan T.C.: Ganciclovir treatment of cytomegalovirus infections in iatrogenically immunocompromised patients. *J Infect Dis* 1987; 156: 1016-1021.

- 134.- Paya C.V., Hermans P.E., Smith T.F., Rakela J., Wiesner R.H., Krom R.A., Torres V.E., Sterioff S., Wilkowske C.J.: Efficacy of ganciclovir in liver and kidney transplant recipients with severe cytomegalovirus infection. *Transplantation* 1986; 46: 229-234.
- 135.- Rubin R.H., Lynch P., Pasternack M.S., Schoenfeld D., Medearis D.N. Jr.: Combined antibody and ganciclovir treatment of murine cytomegalovirus-infected normal and immunosuppressed BALB/c mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1975-1979.
- 136.- Reed E.C., Bowden R.A., Dandliker P.S., Lilleby K.E., Meyers J.D.: Treatment of cytomegalovirus pneumonia with ganciclovir and intravenous cyotomegalovirus immunoglobulin in patients with bone marrow transplants. *Ann Intern Med* 1988; 109: 783-788.
- 137.- Emmanuel D., Cunningham I., Jules-Elysee K., Brochstein J.A., Kernan N.A., Laver J., Stover D., White D.A., Fels A., Polsky B., Castro-Malaspina H., Peppard J.R., Bartus P., Hammerling V., O'Reilly R.J.: Cytomegalovirus pneumonia after bone marrow transplantation successfully treated with the combination of ganciclovir and high-dose intravenous immune globulin. *Ann Intern Med* 1988; 109: 777-782.
- 138.- Frank I., Friedman H.M.: Progress in the treatment of cytomegalovirus pneumonia (editorial). *Ann Inter Med* 1988; 109: 769-771.
- 139.- Arora K.K., Karalakulasingham R., Raff M.J., et al: Cutaneous herpesvirus hominis (type 2) infection after renal transplantation. *JAMA* 1874; 230: 1174-1175.
- 140.- Rubin R.H., Tolckoff-Rubin N.E.: Viral infection in the renal transplant patient. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1982; 19: 513-528.

- 141.- Ho M., Miller G., Atchison R.W., et al: Epstein-Barr virus infection and DNA hybridization studies in posttransplantation lymphoma and lymphoproliferative lesions: The role of primary infection. *J Infect Dis* 1985; 152: 876-886.
- 142.- Hanto D.W., Frizzera G., Gajl- Peczalska K. et al.: Epstein-Barr virus-induced-B-cell lymphoma after renal transplantation. *N. Engl. J. Med* 1982; 306: 913-918.
- 143.- Hanto D.W., Frizzera G., Gajl, et al.: Acyclovir Therapy of Epstein-Barr virus induced posttransplant and lymphoproliferative diseases. *Transplant Proc* 1985; 17: 82-89.
- 144.- Starzl T.E., Nalesnik M.A., Porter K.A., et al: Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. *Lancet* 1984; 1: 583-587.
- 145.- Starzl T.E., Iwatsuki S., Van Thiel O.H. et al. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 1982; 2: 614-636.
- 146.- Starzl T.E., Hakala T., Shaw W.B.J. et al. A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement. *Surg. Gynecol Obstet* 1984; 158: 223-230.
- 147.- Paya C.V., Wold A.D., Smith T.F. Detection of Cytomegalovirus from blood leukocytes separated by Sepracell-MN and Ficoll-Paque/Macrodex methods. *Journal of Clinical Microbiology*. Oct. 1988; 26: 2031-2033.
- 148.- Estadística no paramétrica. Sidney Siegel. Ed. Trillas 1978.
- 149.- BMDP.Manual,1985.UCLA.PIL.
- 150.- Gorenssek M.J., Stewart R.W., Keys T.F., McHenry M.C., Babiak T., Goormastic M.: Symptomatic cytomegalovirus infection as a significant risk factor for major infections after cardiac transplantation. *J Infect Dis* 1988; 158: 884-887.

- 151.- Weichl J.D., Pass R.F., Diethelm A.G., Whitley R.J., Alford C.A. Jr.: Effect of primary and recurrent cytomegalovirus infections upon graft and patient survival after renal transplantation. *Transplantation* 1979; 28: 443-446.
- 152.- Stratta R.J., Shaefer M.S., Markin R.S., Wood R.P. et cols: Clinical patterns of cytomegalovirus disease after liver transplantation. *Arch Surg* 1989; 124 (12): 1443-1449.
- 153.- Dunn D.L., Mayoral J.L., Gillingham K.J., Loeffler C.M., Brayman K.L., Kramer M.A., Erice A., Balfour H.H. Jr., Fletcher C.V., Bolman R.M., et al: Treatment of invasive cytomegalovirus disease in solid organ transplantation with ganciclovir. *Transplantation* 1991; 51: 98-106.
- 154.- D'Alessandro A.M., Pirsch J.D.; Stratta R.J., Sollinger H.W., Kalayoglu M., Belzer F.O.: Successful treatment of severe cytomegalovirus infections with ganciclovir (DHPG) and CMV hyperimmune globulin. *Transpl Proc* Vol 22: 1383-1385.
- 155.- Maddrey W.C., and Van Thiel D.H.: Liver transplantation: an overview. *Hepatology* 1988; 4: 948-959.
- 156.- Snover D.C., Hutton S., Balfour H.H. Jr, Bloomer J.R. Cytomegalovirus infection of the liver in transplant recipients. *J Clin Gastroenterol* 1987; 9(6): 659-665.
- 157.- Shaw B.W., Wood R.L., Kaufman S.S., Williams L., and cols.: Liver transplantation therapy for children: Part 2. *Journal of Pediatric Gastroenterology and nutrition* 1988; 7: 797-815.
- 158.- Andrews W., Siegel J., Renard T., Megison S., Foster L., Cushion Schlatter M. Prevention and treatment of selected fungical and viral infections in pediatric liver transplan recipients. 1990: 204-207.
- 159.- Snyderman D.R.: Prevention of cytomegalovirus disease with intravenous immunoglobulin. *Transpl Proc* 1991; 23: 20-25.

- 160.- **Sissons J.G. Editorials: Human Cytomegalovirus infection. Thorax 1989, 44: 241-246.**
- 161.- **De Armond B.: Safety considerations in the use of ganciclovir in immunocompromised patients. Traspl Proc 1991; 23: 26-29.**
- 162.- **Koneru B., Tzakis A.G., DePuydt L.E., Demetris A.T., Armstrong J.A., Dummer J.S., Starzl T.E.: Transmission of fatal herpes simplex infection through renal transplantation. Transplantation 1988; 45(3): 653-656.**
- 163.- **Feldhoff C.M., Balfour H.H. Jr., Simmons R.L., Najarian J.S., Mauer S.M.: Varicella in children with renal transplants. J Pediatr 1981; 98:25-31.**
- 164.- **Betts R.F.: Cytomegalovirus infection in transplant patients. Prog Med Virol 1982; 28: 44-64.**
- 165.- **Gorensek M.J., Stewart R.W., Keys T.F., McHenry M.C., Goormastic M.: A multivariate analysis of the risk of cytomegalovirus infection in cardiac transplant recipients. J Infect Dis 1988; 157: 515-522.**
- 166.- **Breinig M.K., Zitelli B., Starzl T.E.: Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and other viral infections in children after liver transplantation. J of Infect Dis 1987; 156: 273-279.**
- 167.- **Wreghitt T.C., Hakim M., Gray J.J., Kucia S., Cory-Pearce R., Wallwork J., English T.A.H.: A detailed study of CMV infections in the first 136 heart/lung transplant. Transplant Proc 1987; 19: 2495-2496.**
- 168.- **van der Bij W., Torensma R., van Son W.J., Anema J., Schirm J., Tegzess A.M., The TH.: Rapid immunodiagnosis of active cytomegalovirus infection by monoclonal antibody staining of blood leucocytes. J Med Virol 1988; 25: 179-188.**

- 169.- Gnann J.W. Jr., Ahlmén J., Svalander C., Olding L., Oldstone M.B.A., Nelson J.A.: Inflammatory cells in transplanted kidneys are infected by human cytomegalovirus. *Am J Pathol* 1988; 132: 239-248.
- 170.- Kapasi K., Rice G.P.A.: Cytomegalovirus of peripheral blood mononuclear cells: effects on interleukin-1 and -2 production and responsiveness. *J Virol* 1988; 62: 3603-3607.
- 171.- Schrier R.D., Oldstone M.B.A.: Recent clinical isolates of cytomegalovirus suppress human cytomegalovirus-specific human leukocyte antigen-restricted cytotoxic T-lymphocyte activity. *J Virol* 1986; 59: 127-131.
- 172.- Rand K.H., Rasmussen L.E., Pollard R.B., Arvin A., Merigan T.C.: Cellular immunity and herpesvirus infection in cardiac-transplant patients. *N Engl J Med* 1977; 296: 1372-1377.
- 173.- Pollard R.B.: Cytomegalovirus infections in renal, heart, heart-lung and liver transplantation. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 897-5102.
- 174.- Haagsma E.B., Klompmaker I.J., Grand J., Biljeveld T.H., Schirm J., Slooff M.J.H.: Herpes virus infections after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1987; X19: 4054-4056.
- 175.- Fox A.S., Topin M.D., Baker A.L., Broelsch C.E., Wittington P.F., Jackson T., Thistlethwaite J.R., Sturat F.P. Seropositivity in liver transplant recipients as a predictor of cytomegalovirus disease. *J. Infect Dis* 1988; 157: 383-385.
- 176.- Rakela J., Wiesner R.H., Taswell H.F., Hermans P.E., Smith T.F., Perkins J.D., Krom R.A.F.: Incidence of cytomegalovirus infection and its relationship to donor-recipient serologic status in liver transplantation. *Transplant Pro* 1987; 19: 2399-402.

- 177.- Onorato I.M., Morens D.M., Martone W.J., Stansfield S.K.: Epidemiology of cytomegaloviral infections: recommendations for prevention and control. *Rev Infect Dis* 1985; 7: 479-497.
- 178.- Plotkin S.A., Michelson S., Alford C.A., Starr S.E., Parkman P.D., Pagano J.S., Rapp F.: The pathogenesis and prevention of human cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis* 1984; 3 : 67-74.
- 179.- Grundy J.E., Lui S.F., Super M., Berry N.J., Sweny P., Fernando O.N., Moorhead J., Griffiths P.D.: Symptomatic cytomegalovirus infection in seropositive kidney recipients: reinfection with donor virus rather than reactivation of recipient virus. *Lancet* 1988; 2: 132-135.
- 180.- Burdelski M., Schmidt K., Hoyer P-F, et al.: Liver transplantation in children: the Hannover experience. *Transplant Proc.* 1987; 19: 3277-3281.
- 181.- Russell A.S.: Cell-mediated immunity to herpes simplex virus in man. *J Infect Dis* 1974; 129: 142-146.
- 182.- Preiksaitis J.K., Rosno S., Grumet C., Merigan T.C.: Infections due to herpesviruses in cardiac transplant recipients: role of the donor heart and immunosuppressive therapy. *J Infect Dis* 1983; 147: 974-981.
- 183.- Ludwing J., Wiesner R.H., Batts K.P., Perkins J.D., Krom R.A.F.: The acute vanishing bile duct syndrome (Acute Irreversible rejection) after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1987; 7: 476-483.
- 184.- Vierling J.M., Howell C.H.D.: Desaparición de conductos biliares: mecanismos inmunológicos. *Hospital Practice (ed. esp.)* 1991; 6: 9-23.

- 185.- Dummer J.S., White L.T., Ho M., Griffith B.P., Hardesty R.L., Bahnson H.T.: Morbidity of cytomegalovirus infection in recipients of heart-lung transplants who received cyclosporine. *J Infect Dis* 1985; 152: 1182-1191.